



## 저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

공학석사 학위논문

세포 군집형성능에 기반한 식품에 포함된  
항산화제의 방사선방호 효과 연구

Assessment of the Radioprotection Efficacy of  
Antioxidant Substances in Foods in regard to  
Clonogenic Cell Survival

2014년 8월

서울대학교 대학원  
에너지시스템공학부  
박 효 성

# 세포 군집형성능에 기반한 식품에 포함된 항산화제의 방사선 방호 효과 실험

지도교수 김 은 희

이 논문을 공학석사 학위논문으로 제출함

2014 년 8 월

서울대학교 대학원  
에너지시스템공학부  
박 효 성

박효성의 석사학위논문을 인준함  
2014 년 8 월

위 원 장	<u>최 희 동</u>	(인)
부 위 원 장	<u>김 은 희</u>	(인)
위 원	<u>심 형 진</u>	(인)

## 초 록

방사선은 그 유용성에도 불구하고 일반 국민들에게 매우 두려운 위해 물질로 인식되어 있다. 더욱이 2011년 3월의 일본 후쿠시마 원전 사고와 그에 따른 지구 환경의 방사능 오염 상황은, 방사선의 위해성을 국민들에게 각인시키는 사건이 되었다. 국민들이 방사선에 대해 가지고 있는 무한의 두려움은, 원자력산업체에게는 안전비용 (safety cost)에 대한 부담을 가중시키는 원인이 되고 국민들 스스로에게는 매일의 생활이 불안한 이유가 되고 있다.

방사선이 인체에 미치는 영향 연구는 다양하게 진행되고 있다. 그러나 방사선에 대한 정보가 많음에도 불구하고 대중들의 방사선 이해도는 여전히 낮다. 방사선에 대한 연구가 학술적으로 전문성을 가질수록, 일반 대중에게 대한 정보의 접근성은 낮아진다. 따라서 본 연구에서는 기존의 연구와는 다른 방식으로 자료를 제시하고자 하였다. 먼저 일상생활에서의 친숙한 방호 요소를 제시하고자 하였다. Beta-carotene, Oltipraz, Luteolin은 음식물에 포함된 항산화제로서 방사선 피폭에 의한 데미지를 경감시켜줄 수 있다. 둘째로 대표적인 기호식품 술의 주성분인 에탄올을 사용하여 방사선 피폭과 동등한 위해성을 보이는 농도를 제시하였다. 이는 방사선 고유의 피해 정도와, 항산화제로 얻을 수 있는 방호 효과를 에탄올의 농도를 통해 비교 제시함으로써 보다 효과적으로 전달하기 위함이다.

따라서 본 연구는 일상생활에서 접근할 수 있는 방사선 방호 요소들을 발굴하고, 원자력산업 시대에서 살아가는 사람들에게 안심 정보를 제공하는데 기여할 것으로 예상된다.

**주요어 : 항산화제, 방호효과, 에탄올, 세포독성, 방사선 동등성**

**학 번 : 2012-21000**

# 목 차

초	록	.....	i
목	차	.....	ii
표	목 차	.....	iii
그	림목차	.....	iv
제 1 장.	서론	.....	1
1.1	연구의 목적	.....	1
1.2	연구의 범위	.....	2
제 2 장.	배경이론	.....	4
2.1	방사선의 영향	.....	4
2.2	항산화제	.....	4
2.2.1	세포독성(Cytotoxicity)	.....	4
2.2.2	방사선 방호효과(Radioprotection)	.....	5
2.3	세포군집형성능(Clonogenic assay)	.....	5
제 3 장.	대상 및 방법	.....	6
3.1	세포 및 배양 방법(Cell and Cell culture)	.....	6
3.2	항산화제(Antioxidant)	.....	7
3.3	방호 실험 구성	.....	8
3.3.1	최적의 농도	.....	11

3.3.2 세포 내부 흡수 효과(Uptake) .....	12
3.3.3 전처리 시간 .....	14
3.3.4 후처리 시간 .....	15
3.3.5 최적의 처리 시간 .....	17
3.4 대중친화적 정보 변환 .....	17
3.5 통계 처리(Statistical analysis) .....	18
제 4 장. 결과 및 분석 .....	19
4.1 세포 독성 .....	19
4.2 방사선 방호 효과 .....	22
4.3 세포 내부 흡수 효과(Uptake) .....	26
4.4 전처리 시간 .....	31
4.5 후처리 시간 .....	33
4.6 최적의 처리 시간 .....	36
4.7 항산화제 특성 비교 .....	39
4.8 대중친화적 방호 정보 전달 .....	41
제 5 장. 결론 .....	46
참고문헌 .....	47
Abstract .....	52
감사의글 .....	54

## 그림목차

Fig 3.1	전처리 및 후처리 시간 조건 .....	10
Fig 3.2	<i>Coleus aromaticus</i> 의 활성산소종 소거 능력 .....	11
Fig 3.3	Exfoliated bladder cells(EBC), polychromatic erythrocytes(PCE) 세포에 대한 비타민 E 첨가시 micronuclei 발생 정도 .....	12
Fig 3.4	Silymarin 전처리 시간에 따른 세포의 생존율 .....	14
Fig 3.5	방사선 손상 시간 및 방호효과의 구분 .....	17
Fig 4.1	Cytotoxicity effect of varying concentrations of antioxidants of beta carotene(A), luteolin(B), lycopene(C) or oltipraz(D) on Surviving fraction of MECs .....	21
Fig 4.2	Radioprotection effect of varying concentraion of antioxidants on surviving fraction of MECs. cells were exposed to various concentrations of beta carotene(A), luteolin(B), lycopene(C) or oltipraz(D) 0.5h prior to 4 Gy of radiation. ....	24
Fig 4.3	Effective range of radioprotection. ....	25
Fig 4.4	For uptake effect analysis. Antioxidants were removed from	

medium just before irradiation(A). Antioxidants were remained	
in medium during irradiation(B). DMSO was removed from	
medium(C), DMSO was remained same(D). .....	26
Fig 4.5 Uptake effect of beta-carotene. ....	28
Fig 4.6 Uptake effect of oltipraz. ....	30
Fig 4.7 Effect of varying treatment time of antioxidants on surviving	
fraction of MECs. cells were treated for 0 h, 0.5 h and 2 h	
with (A)beta-carotene and (B)oltipraz prior to irradiation. ....	32
Fig 4.8 Effect of varying treatment time of antioxidants on surviving	
fraction of MECs. cells were treated for 0 h, 0.5 h , 2 h or	
2days with (A)beta-carotene and (B)oltipraz after irradiation.	35
Fig 4.9 Surviving fraction of MECs treated with beta carotene(A),	
oltipraz(B) 0.5 hour prior to irradiation and several hours	
after irradiation. ....	38
Fig 4.10 Cell surviving fraction of radiation(A) and ethanol(B) on MECs ..	42
Fig 4.11 Radiation-equivalency of ethanol inducing same clonogenic	
cell surviving fraction. ....	44



## 표 목 차

Table 3.1	항산화제의 첨가량(Antioxidant treatment doses) .....	7
Table 3.2	항산화제에 대한 방사선 방호 효과 실험 조건 .....	9
Table 3.3	방사선 방호 효과에 대한 기존 연구의 대조군 .....	13
Table 3.4	Mitigation 에 관련하는 항산화제 .....	16
Table 4.1	Antioxidants 의 사용량 .....	39
Table 4.2	Coefficients of linear-quadratic curves for clonogenic cell survivig fraction of MEC(Mouse Endothelial Cells) .....	41
Table 4.3	Ethanol doses equivalent to X-ray dose in clonogenic cell survivig fraction with MEC(Mouse Endothelial Cells) in vitro .....	43
Table 4.4	Radioprotection efficacy of antioxidant substances: (1) increase in MECs' clonogenic surviving fractions from 4 Gy of radiation exposure, (2) the corresponding dose reduction effect and (3) the equivalent efficacy from reduction in alcohol consumption. ....	45

## 제 1 장. 서론

### 1.1 연구의 목적

국민들은 아직도 후쿠시마 원전 사고에 대한 충격에서 벗어나지 못하고 있다. 방사선에 대하여 인지하게 되면서 스스로 방사선 감시 활동을 하고 있고 월계동 아스팔트, 접시꽃이, 온돌매트 등에서 방출되는 방사선을 발견하여 이슈화 시키고 있다. 문제는 일련의 사건들을 통해 국민들이 방사선 피폭에 대하여 극단적으로 위험하게 인식하고 있다는 점에 있다. 실제로 방사선은 생활방사선 형태로 우리 주위에 항상 존재하며 의료, 식품, 산업 등에서 다양하게 쓰인다. 하지만 방사선을 이해하기 위해서 특수하고 전문적인 지식을 요하기 때문에 일반인은 쉽게 알기 어렵고, 이에 따른 무지는 방사선 공포로 나타난다. 이는 장기적으로 원자력 관련 정책 결정, 규제 활동 그리고 일반 생활에서 필요 이상의 안전비용(safety cost) 상승에 영향을 미친다.[1] 따라서 이 연구는 일반인들에게 실생활에서 방사선 방호 효과를 얻을 수 있는 방법이 존재한다는 것을 알리고, 실제로 그 효과가 어느 정도인지 체감할 수 있도록 대중친화적인 시각에서 정보를 전달하여, 일반인들이 방사선에 대하여 무방비하게 놓여있다는 두려움을 해소하고 방사선에 대한 올바른 이해를 도모하는 것을 목표로 하였다.

본 연구의 핵심은 방사선 피폭에 대비할 수 있는 방호 요소를 일반인들이 이해하기 쉬운 형태로 제공하는 것이다. 기존의 연구가 다양한 실험 방법을 통해 방호 체계를 더욱 상세하게 밝혀내고 있지만, 이와 동시에 일반인들이 이해하기에는 어렵도록 고도화, 전문화되고 있기 때문에 일반인과 전문가 사이의 인식 격차가 커지고 상호 커뮤니케이션을 나눌 때에도 어려움을 겪고 있다. 따라서 본 연구는, 첫째로 결과 값을 세포의 생존

울로 제시하여 방사선에 대한 생물학적인 영향을 보다 직관적으로 제시하고자 하였다. 둘째로 방사선의 피해 정도와 항산화제의 방호 정보를 대중 친화적인 관점으로 변환하여 기존보다 접근성이 높은 형태로 정보를 제공할 것이다.

## 1.2 연구의 범위

본 연구는 일상생활에서 쉽게 섭취 가능한 식품군에 포함되어 있는 항산화제의 방사선 방호 효과를 확인하고, 이를 일반 대중에게 효과적으로 전달하는 방법을 찾고자 하였다. 이를 위하여 항산화제의 방사선 방호 효과를 직관적으로 확인할 수 있는 실험방법을 선택하였고, 결과 값을 일반인이 쉽게 이해할 수 있는 정보로 비교 제시하였다.

선택한 실험방법은 세포군집형성능(Clonogenic assay) 실험이다. 일반적으로 항산화제에 의한 방호효과를 관찰하기 위한 여러 가지 실험방법이 사용된다. 크게는 세포손상의 원인이 되는 활성산소종(Reactive Oxygen Species)의 양이 얼마나 감소했는지 측정하는 방법과, 그 결과로 나타나는 세포손상이 어느 정도로 감소했는지 관찰하는 방법으로 나뉜다. 세포군집형성능 평가방법은 이 중에서 후자에 속하며, 세포의 생식능력 파괴 여부를 판별하는 실험이다. 하나의 세포가 6세대 이상 분열하여 커다란 세포군집을 이룬 경우를 제외하면 세포가 죽었다고 평가한다. 세포군집형성능은 DNA 손상, apoptosis 등에 의한 영향이 종합적으로 내제된 결과를 알 수 있다.[1] 본 연구는 손상 기저에 대한 상세한 연구가 목적이 아니라 세포의 생존 여부에 대한 결과 값을 얻고자 하였으므로 이를 적합한 실험방법으로 판단하였다.

또한 세포군집형성능 평가를 통해서 얻은 정보를 이해하기 쉽게 전달하고자 하였다. 대표적인 기호식품인 술의 성분 중에서 핵심 구성 화학물질인 에탄올을 대상으로 방사선 피폭과 동등한 위해성을 보이는 농도를 도출하여 등가 정보를 제공하고자 하였다. 이를 위해 in vitro 환경에서 방사선과 에탄올이 세포에 미치는 생물학적 영향을 확인하였다. 결국 방사선이 특정 물질에 흡수될 때의 양에 대한 단위인 그레이(Gy)를 일반인들이 쉽게 이해할 수 있도록 에탄올의 농도를 사용하여 비교 제시하였다. 동시에 항산화제에 의한 세포의 방호효과 또한 대중 친화적인 시각에서 전달효과를 높이하고자 하였다.

사용한 항산화제는 일반적인 식품에서 많이 섭취할 수 있는 beta carotene, luteolin, lycopene을 선정하였으며, 이를 인공 항산화제인 oltipraz 와 비교하여 천연 항산화제가 가지고 있는 방사선 방호 요소의 특성에 대하여 제공하고자 하였다. 그리고 생활 주변에 방사선에 의한 손상을 저감하는 식품군이 있다는 정보를 제공하고, 일반인들이 방사선에 무방비하게 놓여있다는 불안감을 해소하고자 하였다.

## 제 2 장. 배경이론

### 2.1 방사선 손상

방사선이 세포에 손상을 가하는 방식은 크게 두 가지가 있다. 하나는 'Direct effect' 이며 세포의 DNA 등에 직접 작용하여 비가역적 손상을 불러일으킨다. 다른 하나는 'Indirect effect' 로서 방사선이 세포에 직접 반응하는 것은 아니지만, 주로 물과 반응하여 활성산소종(ROS)을 생성한다. 이렇게 생성된 활성산소종들이 DNA 손상, 지질과산화 등을 야기하며 염색체와 유전자에 독성물질로 작용하게 된다.[2] 활성산소종에 의한 문제를 해결하기 위해서 인체 내부에는 SOD, CAT, GPx, GSH 그리고 비타민 A,E,C 등의 항산화제(Free radical scavenger)가 존재한다. 하지만 활성산소종이 과다하게 생성된 경우 항산화제의 양이 부족하여 방호 효과도 감소하게 된다.[3] 따라서 Beta carotene, Luteolin, Lycopene 등의 항산화제가 공급된다면 과다 생성된 ROS 에 의한 손상을 줄일 수 있게 된다.[4]

### 2.2 항산화제의 영향

#### 2.2.1 세포독성(Cytotoxicity)

항산화제에 대한 연구에 있어서 중요한 점은 방사선 방호 효과만 고려해서는 안 된다는 것이다. 실제로 메르캅토기(sulphydryl) 화합물은 다른 물질들과 비교했을 때 방사선 방호효과가 뛰어나다. 하지만 최적의 방사선 방호효과를 보이는 메르캅토기의 농도가 세포에 독성으로 작용한다는 문제가 있다.[5] 방사선 피폭상황에서는 항산화제가 세포의 생존을 도와주지

만, 방사선이 없는 상황에서는 항산화제 고유의 독성으로 인해 오히려 세포의 성장을 방해할 수 있다. 따라서 항산화제의 자체 독성을 평가하는 것이 중요하다. 기존 연구는 Clonogenic assay 와 MTT assay, Micronuclei assay 등을 이용하여 세포 독성을 파악하였다. 본 연구에서는 Clonogenic assay를 endpoint 로 정하고 실험하였으며 그 이유는 3 장의 3항에서 언급하였다.

## 2.2.2 방사선방호효과(Radioprotection)

혈관내피세포(MEC)에 Beta carotene, luteolin, lycopene 그리고 Oltipraz 항산화제를 첨가하여, 방사선 피폭상황에서 MEC 세포의 생존율을 얼마나 높여주는지 관찰하였다. 4 Gy의 방사선 피폭상황을 대조군으로 하여, 방사선 피폭상황에서 생존율의 유의미하게 상승하는 농도 구간을 확인하였다.

## 2.3 세포군집형성능 실험(Clonogenic assay)

세포 독성 및 방호 효과 실험은 모두 Clonogenic assay를 사용하여 확인하였다. 방사선에 의한 DNA 손상과 apoptosis는 세포의 Clonogenic cell death 로 이어지는 주요한 기전이다. 또한 세포막의 손상과 세포 주기에 관여하는 단백질 및 DNA 의 손상 역시 세포의 성장을 방해한다.(Maddika et al. 2007) 따라서 세포의 성장 여부, 즉 생식능력 여부를 파악하는 Clonogenic assay를 통해서 방사선이 세포에 미치는 영향을 종합적으로 확인할 수 있다. 세포군집형성능 평가방법은 세포의 생식능력 파괴 여부를 판별하는 실험으로서, 하나의 세포가 6세대 이상 분열하여 커다란 세포 군집을 이룬 경우를 제외하면 세포가 죽었다고 판단한다.

### 제 3 장. 대상 및 방법

#### 3.1 세포와 배양 방법(Cell and Cell culture)

본 연구는 일반적인 방사선의 피폭상황에서 방사선 방호 효과를 확인하는 것을 목적으로 하므로 정상 조직 환경에서 세포 영향평가를 수행하였다. 따라서 암세포를 사용하여 실험하지 않고, 정상 혈관내피세포인 Mouse Endothelial Cells(MECs)(ATCC, CRL-2161)을 사용하였다. 방사선 피폭 시 인체 내부의 물 분자와 반응하여 ROS 가 생기는데, 이 ROS 들은 혈관상태(vascular tone)와 각종 혈관세포의 장애(endothelial dysfunction), 동맥의 구조적변화(arterial remodeling) 그리고 혈관 염증(vascular inflammation) 등의 병리기작에 주요한 생리학적 영향을 준다.[1] 또한 처리하고자 하는 항산화제들은 체내 흡수 후 혈액을 통해 이동하므로 세포 영향평가에서 혈관내피세포인 Mouse Endothelial Cells를 사용하였다.

Mouse Endothelial Cells는 90% Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM)(GIBCO)와 10% fetal bovine serum(FBS)(GIBCO)에서 배양하였으며, 10%의 FBS는 56°C에서 Heat-inactivated 처리를 하여 사용하였다. 그리고 온도 37°C, 10% 의 조건으로 조성된 incubator에서 배양하였다. 또한 세포는 Colony formation method(clonogenic assay)를 제외한 모든 환경에서는 T-25 culture Flask(NUNC)에서 배양하였으며 colony formation 시에는 35mm Culture Dish(NUNC)에서 배양하였다.

### 3.2 항산화제(Antioxidant)

본 실험에서 사용한 Beta carotene, lycopene, luteolin, oltipraz 의 양은 Table 3.1에 표기하였다. Beta carotene, lycopene, luteolin, oltipraz 는 모두 Sigma Aldrich에서 powder형태로 구매하였으며 항산화제의 특성상 물에 대한 수용해도가 거의 존재하지 않으므로 medium 상에 고르게 분포시키기 위해 유기용매인 Dimethyl sulfoxide(DMSO) 10  $\mu$ L 를 사용하였다.

Table 3.1 항산화제의 첨가량(Antioxidant treatment doses\*)

Beta carotene	Lycopene	Luteolin	Oltipraz
( $\mu$ g)	( $\mu$ g)	( $\mu$ g)	( $\mu$ g)
0	0	0	0
0.54	0.148	0.028	0.054
1.08	0.740	0.057	0.108
2.7	1.48	0.14	0.27
5.4	7.4	0.28	0.54

\*added to 2 ml of cell culture medium)

각각의 항산화제의 농도에 대하여 DMSO 가 영향을 미치는 것을 방지하기 위해 처리하고자 하는 항산화제는 모두 DMSO 10  $\mu$ L만을 사용하여 용해하였다.

모든 실험은 T-25 culture Flask에 분주된 세포가 T-Flask 표면적에 2/3을 차지할 정도로 분화되었을 때 실험을 진행하였다.



### 3.3 방호 효과 실험 구성

세포 독성 및 방호 효과 실험은 모두 Clonogenic assay를 사용하여 확인하였다. 방사선에 의한 DNA 손상과 apoptosis는 세포의 Clonogenic cell death로 이어지는 주요한 기전이다. 또한 세포막의 손상과 세포 주기에 관여하는 단백질 및 DNA의 손상 역시 세포의 성장을 방해한다.(Maddika et al. 2007) 따라서 세포의 성장 여부, 즉 생식능력 여부를 파악하는 Clonogenic assay를 통해서 방사선이 세포에 미치는 영향을 종합적으로 확인할 수 있다. 전체적인 실험 세트 구성은 Table 3.2 과 같다. Table 3.2 에서 (a) 0 Gy와 (b) 4 Gy는 각각 항산화제의 세포독성과 방호효과실험에 대한 대조군이다. (c)의 DMSO는 항산화제를 녹이는데 사용한 유기용매이다. 실험에 사용한 항산화제는 모두 수용해도가 매우 낮아 DMSO에 녹인 후에 세포에 처리하였다. 그러나 DMSO가 세포 독성 및 방호효과에 영향을 줄 수 있으므로 항산화제에 의한 효과와 비교하였다. (d)는 4 Gy의 방사선 피폭 시 항산화제를 처리한 그룹이다. (e), (f)는 항산화제를 medium에 처리하였을 때 일부가 세포 내부로 흡수될 수 있다. 방호효과가 세포 내부로 흡수된 항산화제에 의해 나타나는지 medium에 균일하게 녹아있는 상태로 나타나는지 비교하고자 하였다. 또한 DMSO에 의한 효과도 확인하였다. (g)~(n)은 방사선 조사 순간을 기점으로 조사 직전에 항산화제를 처리하는 전처리와, 조사 직후에 항산화제를 처리하는 후처리에 대한 효과를 보기 위한 구성이다. 이를 Fig 3.1 에 도식화하였다.

Table 3.2 항산화제에 대한 방사선 방호 효과 실험 조건

실험 목적	실험 조건	비고
대조군	(a) 0 Gy	항산화제의 Cytotoxicity 실험에 대한 대조군
	(b) 4 Gy	Radioprotection에 대한 대조군
DMSO 효과	(c) DMSO 처리	DMSO의 항산화 효과 확인
항산화 효과	(d) Antioxidant 처리	Antioxidant의 항산화 효과 확인
Uptake 효과	(e) DMSO removal	방사선 조사 직전 Medium의 DMSO 제거
	(f) Antioxidant removal	방사선 조사 직전 Medium의 Antioxidant 제거
전처리 시간	(g) pre-treatment 0.5 h	방사선 조사 전 30 분간 전처리
	(h) pre-treatment 2 h	방사선 조사 전 2 시간 전처리
후처리 시간	(i) post-treatment 0.5 h	방사선 조사 후 30 분간 후처리
	(j) post-treatment 2 h	방사선 조사 후 2 시간 후처리
	(k) post-treatment 2 d	방사선 조사 후 2 일간 후처리
최적 조건	(l) pre 0.5h + post 0.5 h	전처리 최적 조건 + 후처리 30분
	(m) pre 0.5h + post 2 h	전처리 최적 조건 + 후처리 2시간
	(n) pre 0.5h + post 2 d	전처리 최적 조건 + 후처리 2일

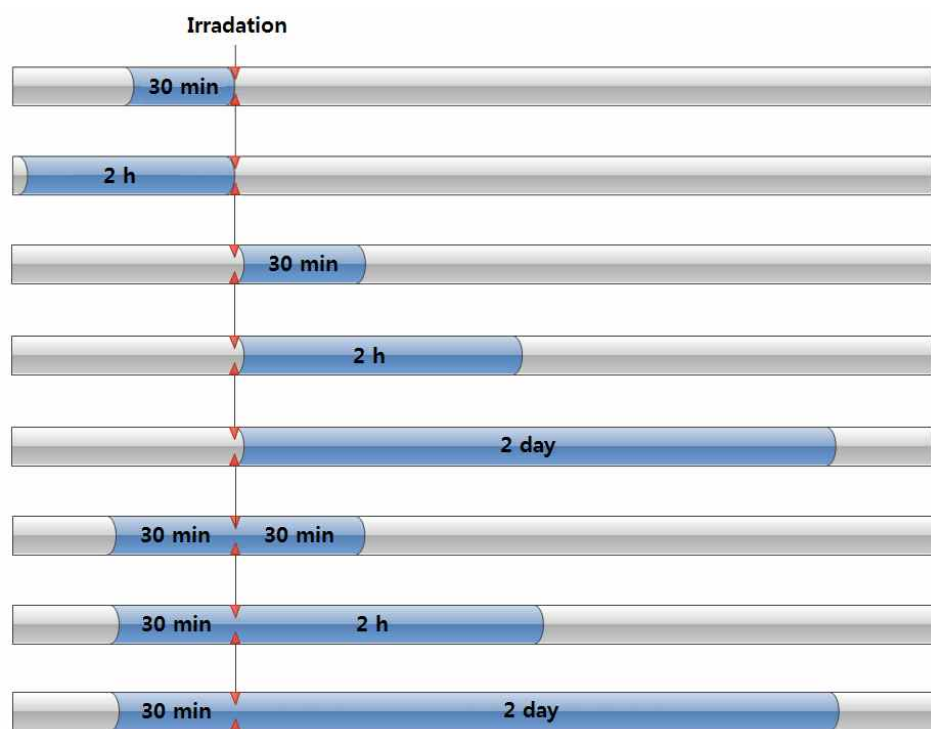


Fig 3.1 전처리 및 후처리 시간 조건

### 3.3.1 최적의 방호 농도

방사선에 의한 손상을 경감시켜주는 최적의 농도가 존재한다. 기존 연구 결과를 보면 항산화제의 농도가 낮은 경우에는 방사선에 의해서 발생된 활성산소종을 충분히 소거하지 못하게 된다. Fig 3.2[6] 를 보면 항산화제로 기능하는 *coleus aromaticus* 의 농도가 증가함에 따라서 활성산소종의 소거 효과가 상승하고 있다. 그러다 특정 농도가 넘으면 발생한 활성산소종과 반응하기에 충분한 항산화제가 존재해서 소거 효과가 포화상태에 달한다.

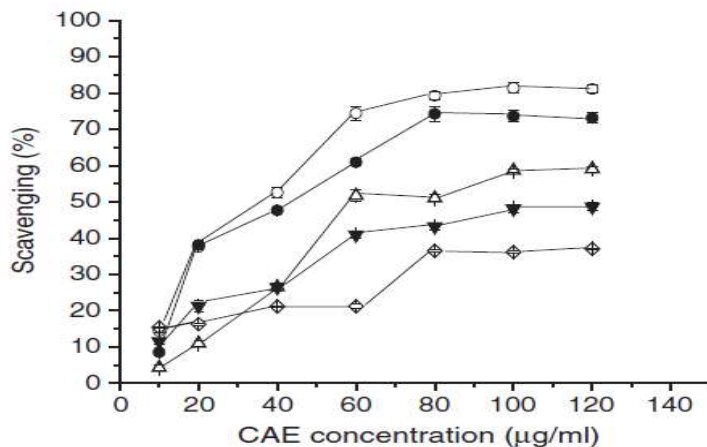


Fig 3.2 *Coleus aromaticus*의 활성산소종 소거 능력[6]

항산화제의 농도가 너무 높을 때에도 방호효과가 감소할 수 있다. 비타민 E 는 인체에 존재하는 대표적인 항산화제이다. Fig 3.3[7]은 비타민 E 의 첨가량에 따라서 미소핵 발생정도(Micronuclei test)가 달라지는 것을 의미한다. 미소핵 분석법은 방사선에 의한 인체 영향을 평가하는 방법으로서 방사선에 많이 노출될수록 미소핵 출현 빈도가 높아진다. Fig 3.3을 통해서 비타민 E 의 농도가 높을수록 오히려 미소핵이 많이 발생하는 것을 확인할 수 있다. 이것은 항산화제의 농도가 높으면 세포에 독성 물질을

로 작용한다는 것을 의미한다.

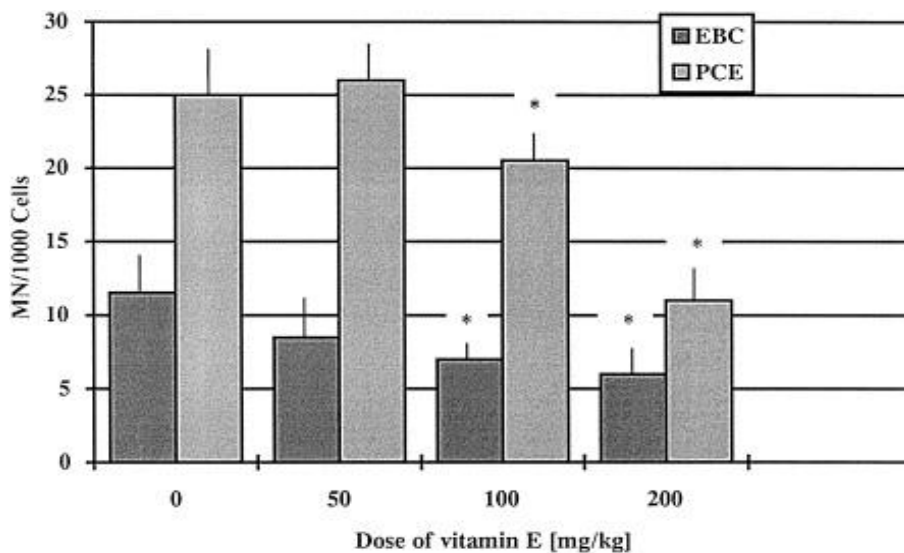


Fig 3.3 Exfoliated bladder cells(EBC), polychromatic erythrocytes(PCE) 세포에 대한 비타민 E 첨가시 micronuclei 발생 정도[7]

### 3.3.2 Uptake 효과

항산화제가 세포내에 흡수된(uptake) 상태로 방호효과가 나타나는지, 혹은 미디엄(medium)에 녹아 있는 상태로 방호 효과를 보이는지 알기 위하여 방사선 조사 직전에 T-flask 내부의 medium을 제거하였다. 이 경우 세포 내부에 흡수된 antioxidant는 남고 세포 내부로 uptake 된 antioxidant는 남기 때문에 의한 이 효과를 분리하여 볼 수 있다. DMSO 역시 세포에 흡수될 수 있으므로 동일한 실험을 진행하였다. 기존 연구들은 항산화제를 DMSO에 녹인 후에 대조군으로 DMSO가 포함되지 않은 세포를 사용하거나, DMSO를 대조군으로 사용하여 진행된 경우가 많았다. Table 3.3는 기존 항산화제 관련 연구에서 control 로 설정한 조건을 분류하였다.

Table 3.3 방사선 방호 효과에 대한 기존 연구의 대조군

대조군	논 문
Fresh Medium	Effect of Brazilian propolis (AF-08) on genotoxicity, cytotoxicity and clonogenic death of Chinese hamster ovary (CHO-K1) cells irradiated with $^{60}\text{Co}$ gamma-radiation
without DMSO	Antioxidant and prooxidant roles for $\beta$ -carotene, $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid in human lung cells
With DMSO	Studies on radioprotective and antiviral activities of some bischalcone derivatives, Med Chem Res
	Radiation protection of human lymphocyte chromosomes in vitro by orientin and vicenin
	Lycopene as a natural protector against $\gamma$ -radiation induced DNA damage, lipid peroxidation and antioxidant status in primary culture of isolated rat hepatocytes in vitro,

대조군을 설정할 때 DMSO 가 포함되지 않은 Medium 으로 설정하는 경우에는 DMSO의 자체 항산화효과가 반영되지 않아 항산화제에 의한 방사선 방호 효과가 과대평가될 가능성이 있다. DMSO 가 포함된 Medium을 대조군으로 설정하는 경우에도 DMSO 와 Antioxidant 의 상호작용이 존재할 수 있으므로, 단순한 차감만으로는 Antioxidant 에 의한 영향을 분석하기 어렵다. 따라서 Table 3.2 의 (b) 4 Gy, (c) DMSO, (d) Antioxidant, (e) DMSO removal, (f) Antioxidant removal로 실험 조건을 세분화하여 antioxidant에 의한 영향을 DMSO와 분리하여 확인하였다.

### 3.3.3 전처리 시간에 의한 효과

항산화제의 방호효과 실험에서 문제점은 방사선에 의해 발생된 활성산소종을 제거하기 위해서 일정 농도 이상의 항산화제가 필요하게 되는데, 그 농도에서 일반 세포들에게 독성 물질로 작용할 수 있다는 점이다. 항산화제를 세포에 전처리하는 시간이 길어지면 세포에 더 많은 영향을 주게 되므로 세포의 생존율을 감소시킬 수 있다. 기존연구를 살펴보면 silymarin이란 항산화제를 이용하여 간세포에 각각 30분, 1시간의 전처리를 한 결과를 알 수 있다. Fig 3.4[8]를 살펴보면 2 Gy의 방사선을 조사하기 전에 30분 동안 전처리한 경우가 1시간 전처리한 경우보다 세포의 생존율이 높다는 것을 알 수 있다. 이 실험에서 사용된 MTT assay는 세포에 MTT 물질을 첨가하였을 때, 살아있는 세포의 미토콘드리아가 MTT를 환원시켜 결정화하는 성질을 이용한다. 따라서 MTT reduction 값이 작을수록 세포에 독성으로 작용함을 의미한다.

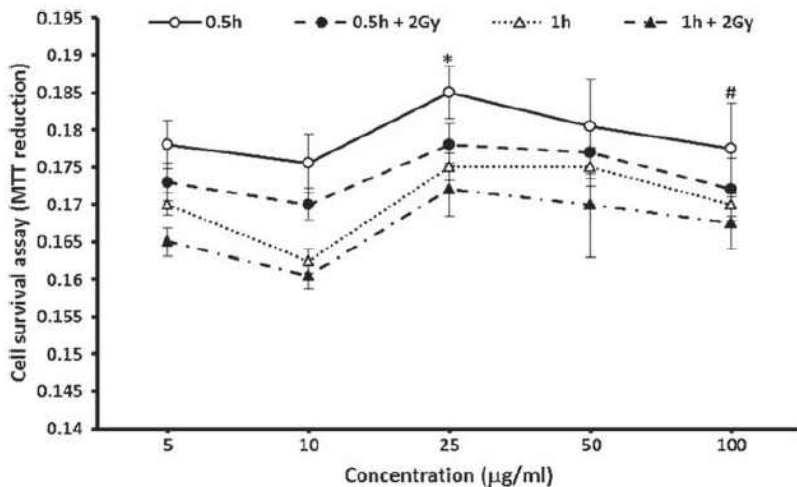


Fig 3.4 Silymarin 전처리 시간에 따른 세포의 생존율.[8]

항산화제는 특정 세포의 활성도를 변화시킬 수 있다. 기존연구를 살펴보면 Lycopene 이 간세포에 첨가된 경우 SOD, CAT 그리고 GPx 등의 효소가 더욱 많이 생성되는 것을 알 수 있다. 이러한 효소 단백질들은 인체에서 항산화제로서 작용한다. Lycopene은 활성산소종과 직접 반응하기도 하지만, 특정 세포에서는 항산화제 효소 생성을 돕는다.[4] 이러한 결과는 마우스를 이용한 in vivo 실험에서도 나타난다. Lycopene을 방사선 조사 직전에 투여하면 체내 GSH 효소의 농도가 증가하여 방사선 방호효과가 상승하게 된다.[10]

따라서 특정 세포나 유기체에 항산화제를 처리할 때 최적의 방사선방호 효과를 얻고자 한다면, 자체 독성 평가 및 체내 항산화 효소의 활성화에 영향을 주는 전처리 시간이 고려되어야 한다.

### 3.3.4 후처리 시간에 의한 효과

방사선에 피폭되면 radical(활성산소종)이 발생하고  $10^{-6} \sim 10^{-3}$  초 안에 세포에 손상을 준다. 따라서 방사선이 피폭되는 순간에 항산화제가 존재해야 방사선 방호 효과가 나타난다. 그러나 방사선에 피폭된 이후에 항산화제를 첨가해도 생존율이 증가할 수 있다. 이러한 현상을 mitigation이라고 부른다. 수 분 내지 수 시간 이내에 항산화제를 첨가하는 경우 방사선에 의해 발생한 피해가 경감된다(mitigation). 방사선에 의해서 DNA가 손상된 경우 신호 전달(signal transduction), 방사선반응 유전자(radiation response genes), 세포 증식( cell proliferation), 염증의 영속화(perpetuation of inflammation)등의 기작이 활성화 되어 DNA 가 회복된다.[11] Mitigation에 관여하는 효소 단백질은 Table 3.4에 정리하였다. 이러한 효소들은 유사분열시 세포가 죽는 현상이나, cytokine cascade로 인하여 면역체계에 장



애가 발생하고 혈관 및 조직에 장애가 발생하는 현상을 막는다. Fig 3.5에 방사선 손상이 미치는 time table을 나타내었는데 방사선 피폭 후 수 초에서 수 시간동안 후 처리 하는 경우 손상을 완화(mitigation)시킨다는 것을 알 수 있다. 따라서 본 연구의 후처리 시간은 30분, 2시간, 2일로 구분하여 실험하였다.

Table 3.4 Mitigation 에 관한하는 항산화제.[11]

원리	역할	물질 종류
증식인자	G-CSF, KGF 등의 상피세포와 표피세포의 증식을 촉진하는 당당백질 활성화	Palifermin
(TGF)- $\beta$ 억제	(TGF)- $\beta$ 의 기능을 억제하여 방사선피폭시 섬유화를 방해함	Halofuginone
Dithiolthione	GST (glutathione -transferase) 활성화	Oltipraz

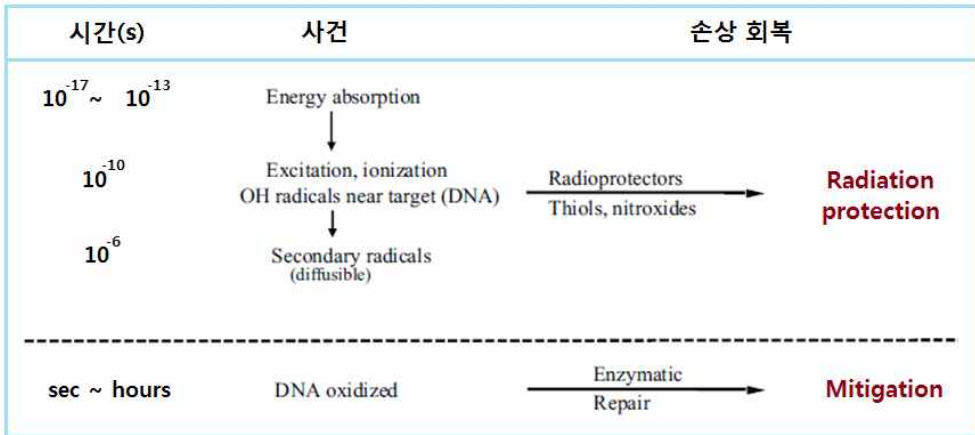


Fig 3.5 방사선 손상 시간 및 방호효과의 구분

### 3.3.5 최적의 처리 시간

최적의 방사선 방호효과가 나타나는 조건을 조합하기 위해 전처리에서 독성이 가장 낮게 나타나는 시간을 선택한 후에, 후처리 시간을 30분, 2시간, 2일로 각각 처리하여 가장 생존율이 높게 나타나는 조건을 찾고자 하였다.

### 3.4 대중친화적 형태의 정보 제시

본 연구의 두 번째 목표는 일반인들이 이해하기 쉬운 형태의 정보로 방사선량 피폭 상황을 전달하고 일상생활에서 접근할 수 있는 방사선 방호 요소들을 발굴하여 원자력산업 시대에서 살아가는 사람들에게 안심 정보를 제공하는 것에 있다. 방사선의 세기를 이야기 할 때는 그 단위를 통해서 이야기해야 한다. 그러나 일반인들은 Gy에 대한 정보를 알 수 없으므

로, 이를 기호식품으로 익숙한 술의 주성분인 에탄올의 양으로 비교 제시할 것이다. 인체에 에탄올이 흡수되는 경우 주로  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  와 같은 활성 산소종이 많은 산화적 스트레스를 유발하며, DNA나 미토콘드리아의 단백질을 손상시켜 세포에 손상을 가하게 된다.(Hoek et al. 2002) 이는 방사선이 세포에 손상을 주는 메커니즘과 유사하므로 비교 대상으로서 타당하다고 판단하였다.

### 3.5 통계 분석(Statistical analysis)

모든 결과 값은 평균값 $\pm$ 표준편차로 제시하였다. 통계적 비교를 위해 student's T-test를 사용하였으며 p 값이 0.05 이하인 경우에 유의미하다고 판단하였다. 항산화제의 독성 평가 실험에서는 저 농도의 항산화제가 세포의 생존에 이로운 영향을 줄 수 있으므로 양측 검정 하였다. 방호 효과 평가 실험에서는, 항산화제가 독성을 띄지 않는 농도에서는 생존율이 상승할 것으로 예상되므로 단측 검정하였으며, 독성을 띄는 농도 이상에서는 방호효과와 독성효과가 혼재되어 있으므로 양측 검정하였다.

## 제 4 장. 결과 및 분석

### 4.1 세포 독성(Dose-dependent cytotoxicity)

세포에 2 ml의 배양액(medium)을 첨가하고, 아무런 처리를 하지 않은 그룹과 항산화제를 30분간 처리한 그룹으로 나누어 생존율을 구하였다. 항산화제를 배양액에 균일하게 처리하기 위해서 유기용매(DMSO)에 녹여 사용하였는데, DMSO에 의한 고유한 영향을 확인하기 위해 DMSO를 처리한 그룹을 별도로 설정하였다. 이 실험을 통해서 항산화제가 세포에 독성으로 작용하기 시작하는 농도를 찾고자 하였다. Fig 4.1은 30분간 beta carotene, luteolin, lycopene, oltipraz 항산화제를 MEC 세포에 처리한 후 세포의 생존율을 나타낸 그래프이다. 각 농도마다 2개의 그래프가 있는데 좌측의 사선으로 칠한 그래프는 DMSO가 없는 배양액을 대조군으로 생존율을 정규화한 값이고, 오른쪽의 그래프는 DMSO가 포함된 배양액의 생존율을 기준으로 정규화한 값이다. 이를 통해 DMSO가 세포에 미치는 영향을 배제하여 살펴보고자 하였다. (A)는 MEC에 대한 beta-carotene의 독성을 의미한다. 생존율 감소는 1.08  $\mu\text{g}$ 까지는 나타나지 않다가 2.7  $\mu\text{g}$ 부터 나타나기 시작한다. 5.4  $\mu\text{g}$ 에 대한 생존율은 1.08  $\mu\text{g}$ 의 세포 생존율에 비하여 유의미한 수준( $p < 0.05$ )으로 떨어졌다. 0.54  $\mu\text{g}$ 과 1.08  $\mu\text{g}$ 은 농도와 독성의 상관관계가 나타나지 않지만, 2.7  $\mu\text{g}$ 과 5.4  $\mu\text{g}$ 에 대한 독성은 농도에 비례하여 증가하는 경향을 보인다. Beta carotene은 저 농도에서는 유의미한 세포독성을 보이지 않다가 특정 농도를 넘어서면 세포 독성을 띄게 되고, 농도가 높아질수록 독성 또한 강해지는 것을 알 수 있다.

(B)는 MEC 세포에 대한 luteolin의 독성을 의미한다. 0.143  $\mu\text{g}$ 의 저 농도와 28.6  $\mu\text{g}$ 의 고 농도를 제외한 구간에서 대조군보다 높은 생존율을 확

인할 수 있다. Luteolin은 MEC 세포에 대한 독성이 비교적 낮으며, 독성을 띄지 않는 농도 구간이 넓은 것을 알 수 있다.

(C)는 MEC 세포에 대한 lycopene의 독성을 의미한다. 10.74  $\mu\text{g}$  보다 낮은 농도에서는 독성이 나타나지 않다가, 21.48  $\mu\text{g}$  보다 높은 영역에서는 유의미한 독성을 확인하였다. Lycopene은 저 농도에서는 유의미한 세포독성을 보이지 않다가 특정 농도를 넘어서면 세포에 독성 물질로 작용한다는 것을 알 수 있다.

(D)는 MEC 세포에 대한 Oltipraz 의 독성을 의미한다. 0.27  $\mu\text{g}$  보다 높은 농도에서 독성으로 작용하는 것을 확인할 수 있었다. 0.54  $\mu\text{g}$  의 생존율은 더욱 낮아지며 농도에 비례하여 독성 또한 증가하는 것을 확인할 수 있다. Oltipraz는 beta-carotene, luteolin, lycopene 등의 천연항산화제와 비교하였을 때 비교적 적은 양으로도 세포에 독성을 띄는 것을 확인하였다.

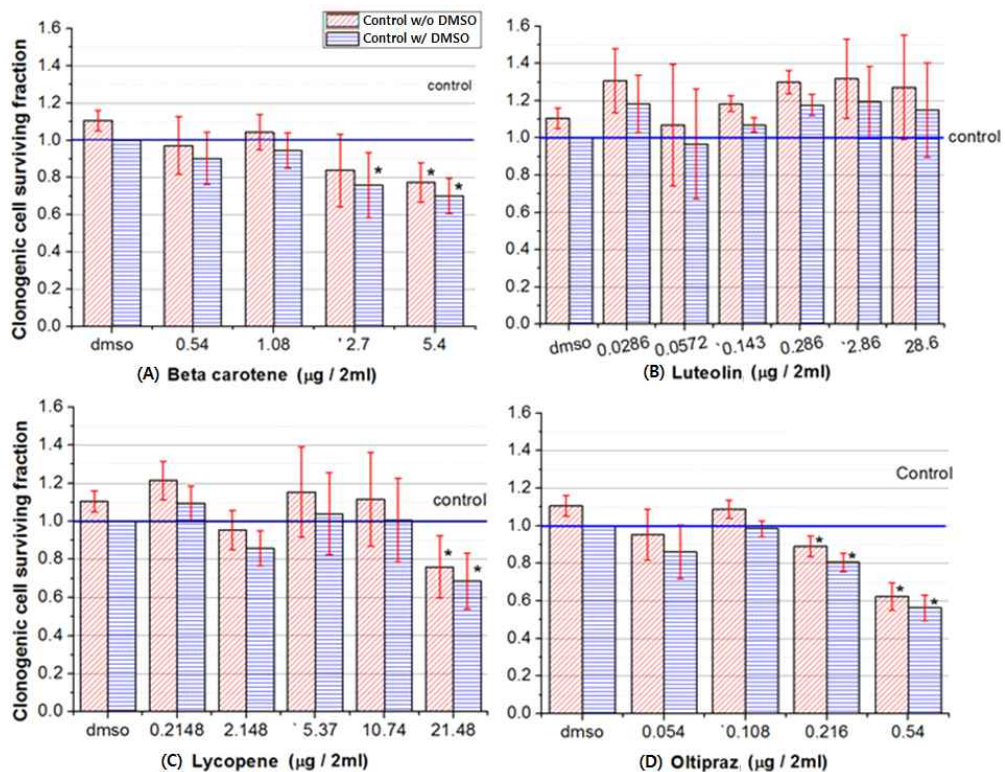


Fig 4.1 Cytotoxicity effect of varying concentrations of antioxidants of beta carotene(A), luteolin(B), lycopene(C) or oltipraz(D) on Surviving fraction of MECs. Cells were treated for 0.5 hours prior to irradiation. The symbol \* indicates the significant difference from the control( $p < 0.05$ ).

## 4.2 방사선 방호 효과(Dose-dependent Radioprotection effect)

세포에 2 ml의 배양액(medium)을 첨가하고, 아무런 처리를 하지 않은 그룹과 항산화제를 30분간 처리한 그룹으로 나누어 4 Gy의 방사선 피폭 상황에서 생존율을 구하였다. 이 실험을 통해서 4 Gy의 방사선 피폭 상황에서 항산화제를 처리한 세포의 생존율이 얼마나 상승하는지 확인하고자 하였다. 모든 항산화제는 10  $\mu$ L의 Dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹인 후에 배양액에 첨가하여 DMSO가 미치는 영향을 최소화하였다. 각 농도마다 2 개의 그래프가 있는데 좌측의 사선으로 칠한 그래프는 DMSO가 없는 배양액을 대조군으로 생존율을 정규화한 값이고, 오른쪽의 그래프는 DMSO만 포함된 배양액의 생존율을 DMSO가 없는 배양액의 값에 맞추어 비례적으로 조정한 값이다. 이를 통해 DMSO의 방사선 방호 효과를 배제하여 살펴보고자 하였다.

Fig 4.2 (A)의 Beta carotene은 5.4  $\mu$ g의 농도를 제외한 전 구간에서 항산화효과를 보였으며 특히 1.08  $\mu$ g을 처리한 조건에서 최적의 항산화 효과를 나타내었다. 2.16  $\mu$ g의 경우 대조군에 비하여 유의미한 항산화 효과를 나타냈으나, 앞서 Beta carotene의 자체 cytotoxicity를 실험한 결과에서 2.16  $\mu$ g 이상의 양을 처리하면 세포에 독성 물질로 작용함을 확인하였다. 따라서 Radiation 피폭이 확실치 않은 조건에서는 1.08  $\mu$ g의 농도를 처리하는 경우에 MECs에 독성물질로 작용하지 않으면서, 방사선 피폭 시 방호 효과를 얻을 수 있다. 0.54~1.08  $\mu$ g에서 방사선 방호 효과가 높아지는 것은 방사선에 의해 발생한 활성산소종을 소거하는데 필요한 항산화제의 양이 부족하기 때문이다. 2.7  $\mu$ g 이상에서 방호효과가 감소하는 현상을 보인다. 그 이유로는 첫째로 Beta carotene이 MEC에 독성으로 작용하며, 둘째로 Beta carotene과 radiation이 반응하여 생성된 byproducts가 Beta

carotene 의 항산화 활동을 방해할 수 있기 때문이다.[4]

Fig 4.2 (B)는 Luteolin에 대한 방호효과를 의미한다. 0.143~2.86  $\mu\text{g}$  사이에서만 통계적으로 유의미한 ( $p < 0.05$ ) 방호 효과를 확인 할 수 있었다. 최적의 농도는 0.286  $\mu\text{g}/2\text{ ml}$  (1 nM) 으로 나타났다. Luteolin 은 실험 구간 안에서 Mecs 에 독성으로 작용하지 않았으므로 방사선 피폭이 확실하지 않은 상황에서도 0.143~2.86  $\mu\text{g}$  사이의 모든 농도로 처리 가능하다. 이보다 높은 농도에서는 Radiation 과 반응하여 생성된 Byproducts 가 항산화 활동을 방해하기 때문에 방호 효과가 떨어지는 것으로 보인다.

Fig 4.2 (C)는 Lycopene에 대한 방호효과이다. 0.2148~5.376  $\mu\text{g}$  사이의 농도에서 항산화 효과가 나타났다. 이 사이의 농도는 Mecs 에도 독성으로 작용하지 않는다. 10.746  $\mu\text{g}$  이상의 농도에서는 Lycopene 이 Mecs 에 독성으로 작용하며, Lycopene과 Radiation이 반응하여 생성된 Byproducts 가 항산화 활동을 방해할 수 있기 때문에 방호 효과가 낮아진다.

Fig 4.2 (D)는 Oltipraz에 대한 방사선 방호효과를 나타내고 있다. 나머지 항산화제와 비교했을 때 가장 낮은 물농도에서 효과를 보였다. 0.054~0.27  $\mu\text{g}$  사이의 농도에서 항산화 효과가 나타났고, 0.54  $\mu\text{g}$  이상의 농도에서는 방호효과가 나타나지 않았다. 그 이유는 0.27  $\mu\text{g}$  보다 높은 농도에서 MEC 세포에 대하여 독성 물질로 작용하며, 농도에 비례하여 독성이 증가하기 때문이다.

항산화제 농도에 따른 고유 독성과, 방사선 방호 효과를 동시에 고려하여 Fig 4.3에 유효 농도 구간을 표시하였다.



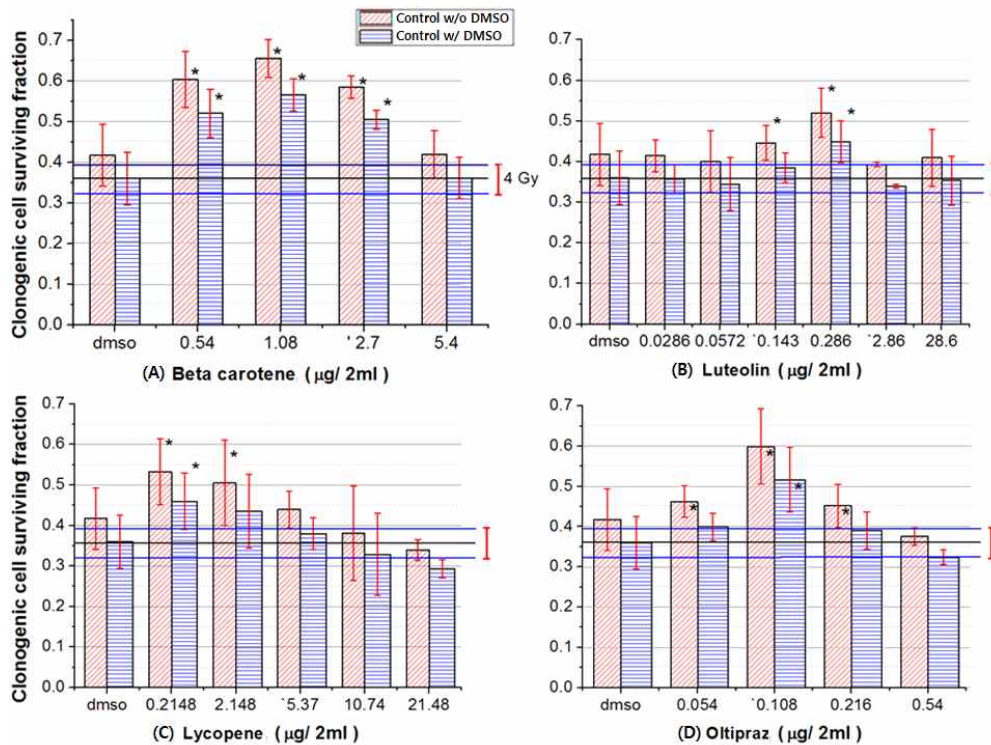


Fig 4.2 Radioprotection effect of varying concentration of antioxidants on surviving fraction of MECs. cells were exposed to various concentrations of beta carotene(A), luteolin(B), lycopene(C) or oltipraz(D) 0.5h prior to 4 Gy of radiation. Colony-forming efficiency was determined 14 days later. The symbol \* indicates the significant difference from the control( $p < 0.05$ ).

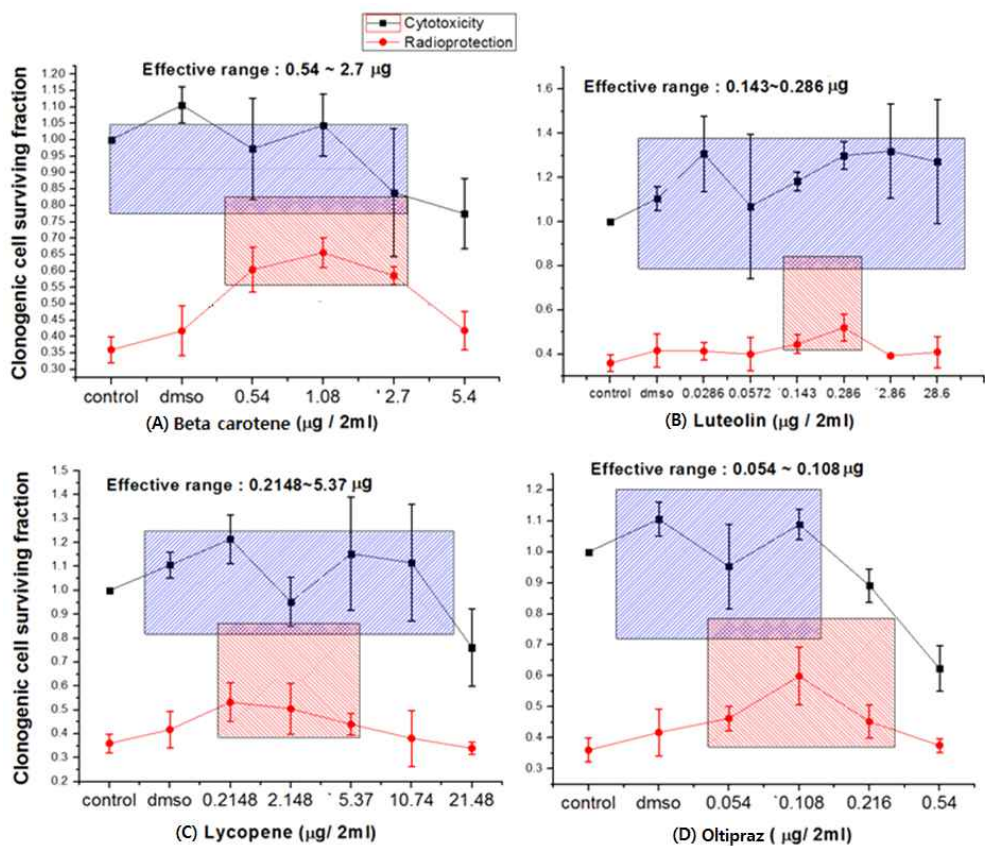


Fig 4.3 Effective range of radioprotection. Upper graph indicates Cytotoxicity effect of varying concentrations of antioxidants. The other one indicates Radioprotection effect of varying concentration of antioxidants on surviving fraction of MECs.

### 4.3 세포 내 흡수(Uptake effect)

세포 사멸에 있어서 방사선에 의한 DNA손상은 가장 중요한 손상기저이다. 활성산소종이 매우 짧은 시간동안 DNA에 비가역적 손상을 일으키므로, 방호 효과를 보기 위해서는 피폭되는 순간 항산화제가 존재해야 한다. 그리고 효과를 높이기 위해서는 항산화제가 DNA 또는 핵에 근접해야 한다.[12] 따라서 배양액에 있던 항산화제가 세포 내부로 흡수(uptake)된다면 방호 효과가 높게 나타날 것이다. 항산화제가 DNA 대신 활성산소종과 결합하거나, 이미 손상이 발생한 DNA에 화학적 작용을 통해 회복을 도움으로써 세포의 손상을 최소화하기 때문이다.[13] 이를 확인하기 위해 방사선 조사 직전에 플라스크안의 배양액(medium)을 제거하고 새 배양액(fresh medium)으로 교체하는 그룹을 설정하였다. Fig 4.4에 이를 그림으로 도식화하였다.

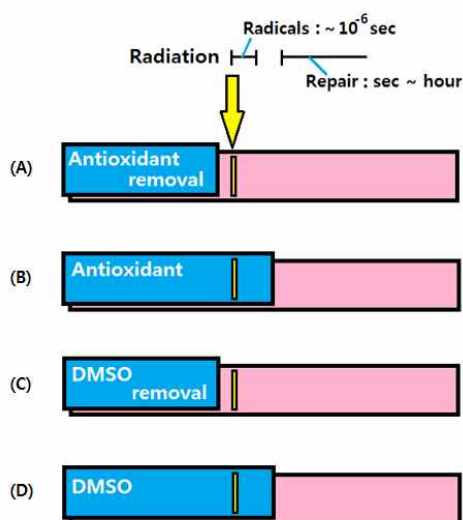


Fig 4.4 For uptake effect analysis. Antioxidants were removed from medium just before irradiation(A). Antioxidants were remained in medium during irradiation(B). DMSO was removed from medium(C), DMSO was remained same(D).

#### 4.3.1 Beta carotene

방사선 피폭 하에서 beta carotene을 1.08 ~ 2.16  $\mu\text{g}$  처리했을 때에 방호 효과가 높게 나타났고 2.16  $\mu\text{g}$  이상의 Beta carotene은 세포에 독성 물질로 작용함을 확인하였다. 따라서 독성이 나타나지 않으면서, 방호효과가 가장 높게 나타난 1.08  $\mu\text{g}$ 을 최적의 농도로 판단하고 실험하였다.

Fig 4.5은 beta-carotene의 흡수 효과에 대한 그래프이다. 'BC removal'은 방사선 조사 직전 항산화제를 처리했던 배양액을 제거한 실험군이다. 이 과정을 통해 세포 내부에 남아있는 항산화제는 남고, 배양액에 균일하게 분포하고 있는 항산화제는 제거되므로, 세포 내부에 흡수된 항산화제에 의한 독립된 영향을 확인할 수 있다. 'BC removal'의 경우 대조군인 '4 Gy'의 결과와 비교하여 유의미한 차이를 확인하였다.( $p < 0.05$ ) 세포 내부에 흡수될 때 DMSO에 의한 영향을 제거하기 위해서, DMSO에 대한 동일한 실험을 반복하였다. 그 결과 세포 내부로 흡수(uptake)된 DMSO에 의한 방호 효과가 없음을 확인하였다. 따라서 흡수(uptake)에 의한 방호효과는 순수하게 beta carotene에 의해 나타난다는 것을 확인하였다. 그러나 가장 방호효과가 높게 나타난 경우는 beta carotene이 세포 내부에도 존재하고, 배양액에 고르게 분포한 경우였다. 따라서 beta-carotene에 의한 방호 효과는 배양액에 균일하게 분포되어 있는 상황에 의하여 주도적으로 이루어진다.

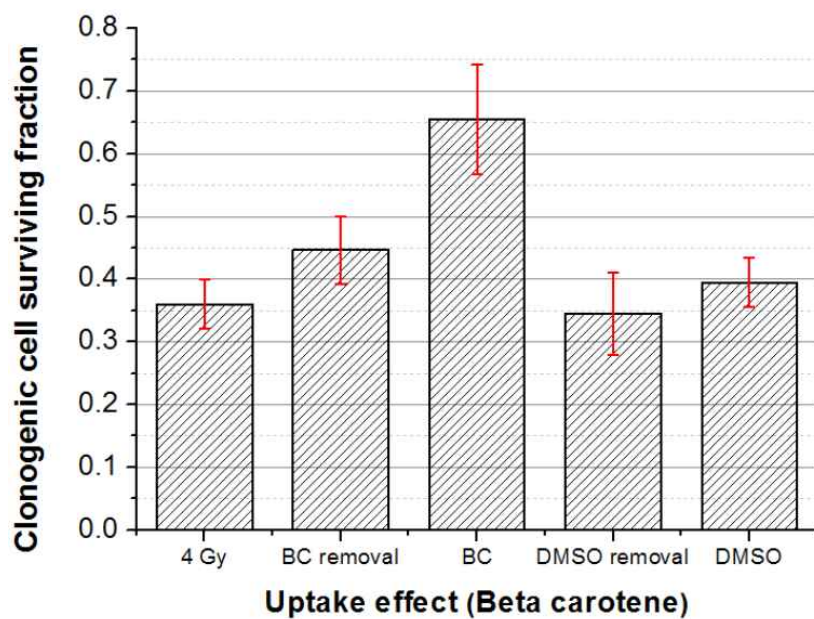


Fig 4.5 Uptake effect of beta-carotene. cells were exposed to 4 Gy of radiation. 'BC removal' and 'BC' were pre-incubated with beta-carotene. Then medium containing beta-carotene was removed before irradiation at 'BC removal groups'.

### 4.3.2 Oltipraz

방사선 피폭 하에서 oltipraz를 0.0548 ~ 0.216  $\mu\text{g}$  처리했을 때에 방호 효과가 높게 나타났고 0.216  $\mu\text{g}$  이상의 oltipraz는 세포에 독성 물질로 작용함을 확인하였다. 따라서 독성이 나타나지 않으면서, 방호효과가 가장 높게 나타난 0.108  $\mu\text{g}$ 을 최적의 농도로 판단하고 실험하였다.

Fig 4.6은 oltipraz의 흡수 효과에 대한 그래프이다. 'oltipraz removal'그룹은 방사선 조사 직전 oltipraz를 처리했던 배양액을 제거한 실험군이다. 이 과정을 통해 세포 내부에 남아있는 oltipraz는 남고, 배양액에 균일하게 분포하고 있는 oltipraz는 제거되므로, 세포 내부에 흡수된 항산화제에 의한 독립된 영향을 확인할 수 있다. 'oltipraz removal'의 경우 대조군인 '4 Gy'의 결과와 비교하여 유의미한 차이를 확인할 수 없었다. 세포 내부에 흡수된 DMSO의 영향을 제거하기 위해서, DMSO에 대한 동일한 실험을 반복하였다. 그 결과 세포 내부로 흡수(uptake)된 DMSO에 의한 방호 효과가 없음을 확인하였다. 따라서 흡수(uptake)에 의한 방호효과가 oltipraz와 DMSO에 의해 나타나지 않는다는 것을 확인하였다. 따라서 oltipraz에 의한 방호 효과는 배양액에 균일하게 분포되어 있는 상황에 의하여 주도적으로 이루어진다.

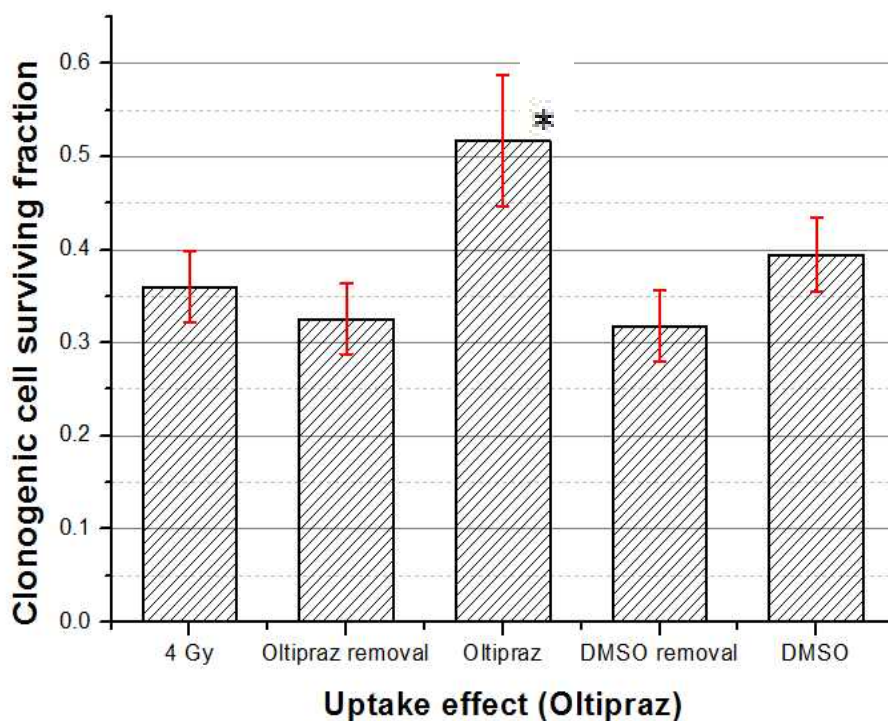


Fig 4.6 Uptake effect of oltipraz. cells were exposed to 4 Gy of radiation. 'oltipraz removal' and 'oltipraz' were pre-incubated with oltipraz. Then medium containing oltipraz was removed before irradiation at 'oltipraz removal' groups.

#### 4.4 전처리 시간(Pre-treatment time)

##### 4.4.1 Beta carotene

Fig 4.7의 (A)는 beta carotene의 전처리 시간에 대한 세포의 생존율을 의미한다. 방사선 조사 전에 1.08  $\mu\text{g}$ 의 beta carotene을 30분, 2시간 처리하고 방사선을 조사한 후 수 분 이내에 fresh medium 으로 교체하여 후처리의 영향을 배제하고 세포군집형성능을 확인하였다. 30분 처리한 경우와 2시간 처리한 경우는 서로간의 유의미한 차이를 확인하지 못하였다.( $p>0.05$ ) 그러나 앞서 beta carotene이 2.16  $\mu\text{g}$  이상의 양에서 세포에 독성으로 작용할 수 있음을 전 실험을 통하여 확인하였다. 전처리 시간의 증가는 항산화제와 세포 간 상호 작용의 상승을 의미하고, 자체 독성에 의한 세포 손상 또한 증가했다고 예상할 수 있다. 그러나 결과적인 생존율에 의한 차이가 유의미하게 발생하지 않았으므로, 전처리 시간 증가에 의한 방호 효과가 세포 독성 증가에 의한 영향과 서로 상쇄되어 생존율에는 반영되지 못한 것으로 판단된다. 세포 독성을 최소화하는 관점에서 최적의 전처리 시간을 30분으로 판단하였다.

##### 4.4.2 Oltipraz

Fig 4.7 (B)는 oltipraz의 전처리 시간에 대한 세포의 생존율을 의미한다. 방사선 조사 전에 0.108  $\mu\text{g}$ 의 oltipraz를 30분, 2시간 처리하고 방사선을 조사한 후 수 분 이내에 fresh medium 으로 교체하여 후처리의 영향을 배제하고 세포군집형성능을 확인하였다. 30분 처리한 경우와 2시간 처리한 경우는 서로간의 유의미한 차이를 확인하지 못하였다.( $p>0.05$ )



Oltipraz는 전처리 시간에 크게 의존하지 않는 것으로 판단하여 30분의 전처리 시간을 최적으로 선택하였다.

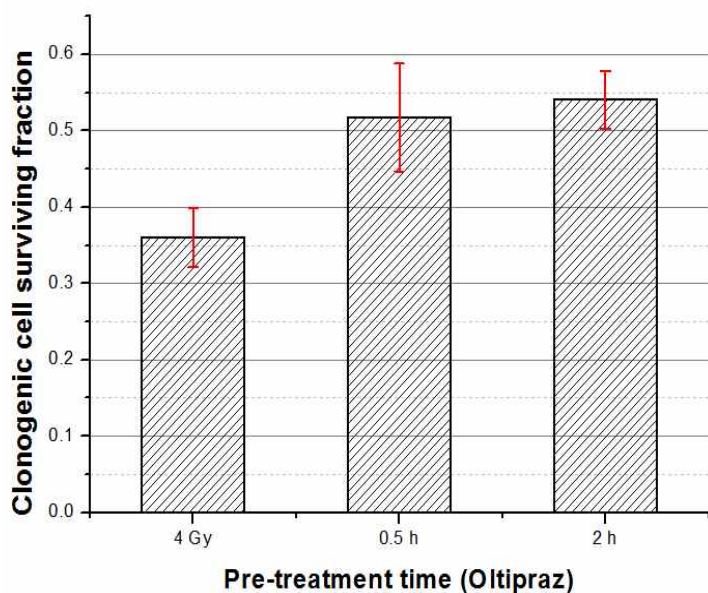
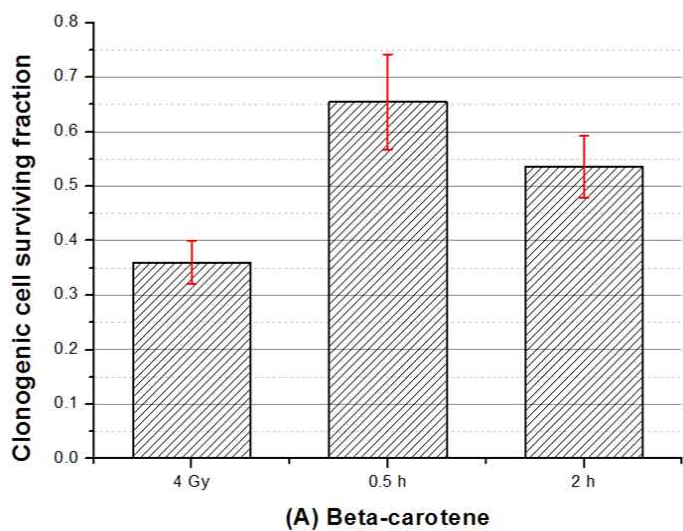


Fig 4.7 Effect of varying treatment time of antioxidants on surviving fraction of MECs. cells were treated for 0 h, 0.5 h and 2 h with (A)beta-carotene and (B)oltipraz prior to irradiation.

## 4.5 후처리 시간(Post-treatment time)

### 4.5.1 Beta carotene

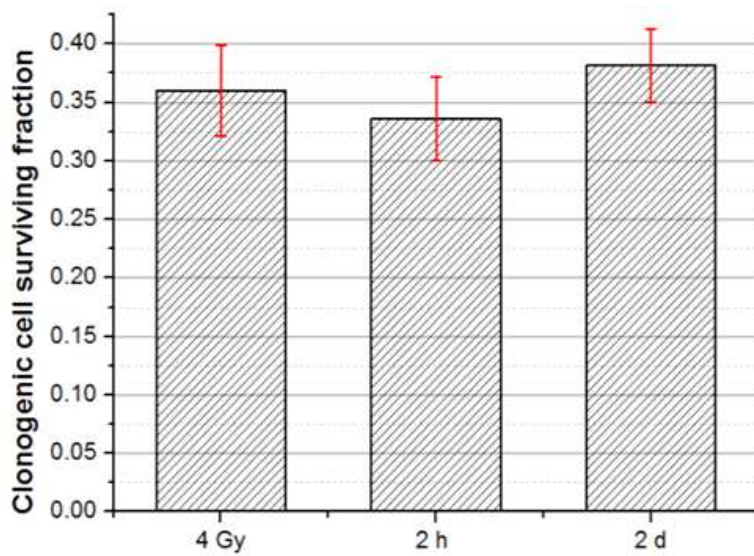
Fig 4.8 (A)는 세포에 방사선을 조사한 후, beta carotene을 수 분 내에 첨가하여 후 처리한 실험군의 생존율을 의미한다. 그 결과로는 0시간, 2시간 그리고 2일간 처리한 실험군 사이에 유의미한 생존율의 차이가 나타나지 않았다. 방사선 조사 시점에 이미 활성산소종에 의한 세포 손상이 발생하였고, 마이크로초 단위로 활성산소종이 사라지므로 수 분 후에 첨가한 beta carotene은 방호 관점에서 큰 역할을 하지 못하였다. 앞서 beta carotene을 전 처리한 경우 방사선 방호 효과를 보인 점을 고려하면, beta carotene은 활성산소종을 제거하는 항산화제로서 기능하며, 이미 손상이 발생한 경우에는 방호 측면에서 큰 도움이 되지 않는 것을 알 수 있다. Beta carotene을 통해서 방호 효과를 기대한다면 방사선 피폭 시점에 세포 주위에 존재해야 하며, 필수적으로 방사선 피폭이 예상되는 경우에 전 처리함으로써 예방적 측면에서 기능할 수 있다.

### 4.5.2 Oltipraz

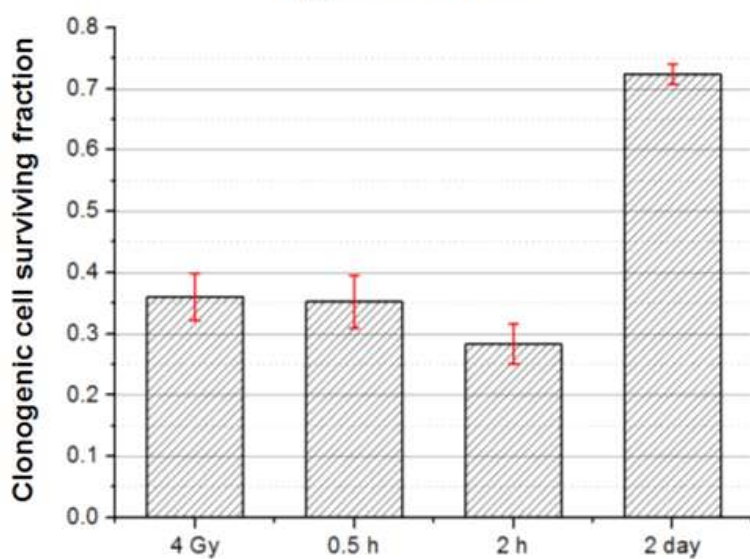
Fig 4.8 (B) Oltipraz는 후 처리시간에 대한 세포 생존율 사이에 관계를 의미한다. 특이하게도 처음 2시간 까지는 세포의 생존율이 감소하다가 후 처리 시간이 더 길어져 2일까지 처리한 경우 생존율이 크게 증가되었다. 이는 Oltipraz의 대사 특성에 기인한 것으로 판단된다. Oltipraz는 산화된 후에 세포와 오랫동안 반응할 경우 독성으로 작용하여 세포의 생존율을 낮출 수 있다. 실제로 기존 연구 중에 30  $\mu$ M 의 Oltipraz를 HepG2 세포

에 처리한 결과 미토콘드리아 내의 활성산소종의 발생량이 크게 증가한 경우를 찾아볼 수 있었다.[15] Oltipraz가 산화작용에 의하여 M2 로 변화되는 과정에서 PPD 라는 중간체가 형성될 수 있는데, PPD 가 미토콘드리아 내의 활성산소종을 유도하기 때문이다. 이는 올티프라즈가 세포와 많이 반응하는 경우 독성으로 작용할 수 있음을 의미한다. 한편 Oltipraz 는 In vivo와 In vitro 상태에서 세포 내 대사 과정 중 산화되어, M1(4-methyl-5-(pyrazin-2-yl)-3H-1,2-dithiol-3-one)이 나 M2(7-methyl-6,8-bis(methylthio)H-pyrrolo[1,2-a]pyrazine)로 변한다. M1 과 M2는 산화적 스트레스로부터 세포를 보호하는 특성을 갖는데, 주요한 기능으로는 활성산소종의 생성을 직접적으로 막으며 GSH의 생성량을 증가시켜 GSH가 직접 라디칼을 소거하여 DNA를 보호하도록 한다. 또한 M1과 M2는 AMPK, Nrf2 효소를 활성화 시키는데, 이는 미토콘드리아를 보호하는 특성을 가지고 있다.[14] 그런데 M1, M2에 의한 방호효과는 천천히 발생한다. 실제로 oltipraz 의 산화 대사체는 DNA 회복에 주요한 기작을 갖는 Nrf2 system을 활성화하면서 GSTA2 단백질을 생성하는데, GSTA2 단백질의 생성량을 조사한 결과 12시간은 경과해야 관측되기 시작한다는 연구 결과가 존재한다.[16] 따라서 후처리를 시작한 지 2시간 까지는 Oltipraz 에 의하여 독성효과가 주로 나타나다가 12시간 이후부터는 M1, M2 등의 산화 대사체들에 의하여 DNA 손상이 회복되는 과정이 우세하게 나타난다.

결과적으로 Oltipraz는 직접 활성산소종을 소거시켜 세포를 보호하며 이와 동시에, M1 및 M2를 통한 세포 손상 회복에 작용함으로써 방사선 방호 효과를 갖는다는 것을 의미한다. Oltipraz는 방사선 피폭이 예상되는 상황에서 예방적 측면에서 방호 효과를 갖으며, 예상치 못한 방사선 피폭 시에도 세포의 손상을 완화하는 기능 또한 갖는다고 할 수 있다.



**(A) Beta-carotene**



**(B) Oltipraz**

Fig 4.8 Effect of varying treatment time of antioxidants on surviving fraction of MECs. cells were treated for 0 h, 0.5 h , 2 h or 2days with (A)beta-carotene and (B)oltipraz after irradiation.

## 4.6 최적의 처리 시간(Optimized-treatment)

### 4.6.1 Beta carotene

앞서 beta carotene과 oltipraz의 항산화제에 대하여 각각 전 처리 및 후 처리에 의한 영향을 확인하였다. 전 처리 및 후 처리의 관점에서 높은 생존율을 보인 조건을 서로 조합하여 최적의 방호효과를 보이는 조합을 찾고자 하였다. Fig 4.9 (A)는 beta-carotene에 대한 결과이다. 전 처리시간은 세포에 독성을 띄지 않으면서 방호효과가 가장 높았던 30분으로 설정하였다. 후처리 시간은 30분, 2시간, 2일 그리고 12일로 나누어 실험하였다. 그 결과 2시간의 후 처리를 한 실험군의 경우가 생존율이 가장 높았다. 전처리가 없이 후처리만을 했을 때는 2시간이 지나도 방호효과가 나타나지 않았으나, 30분간의 전 처리를 한 다음 2시간 동안 후 처리했을 때는 세포의 생존율이 전 구간 중에 가장 높았다. 후 처리는 그 고유한 특성으로 인해 방사선 조사 후 일정 시간이 지난 순간부터 가능하다. 방사선 방호의 측면에서 순수하게 후 처리에 대한 이득을 얻기 위해서는 방사선 피폭 직후 항산화제를 투여해야 할 것이다. 그러나 사람이나 동물의 인체에 항산화제를 투여하는데 필연적으로 일정 시간이 요구되기 때문이다. 실험상으로도 방사선 조사장치에서 조사 후 항산화제의 처리가 가능한 순간까지 수 분이 요구된다. 방사선 조사 후 beta carotene이 포함된 배양액을 처리하는 시점까지 물리적인 시간이 소요되기 때문이다. 그러나 전처리를 미리 시작한 경우에는 beta carotene이 세포 내부에 흡수된 상태이며, 배양액에도 지속적으로 유지되기 때문에 후처리가 방사선 피폭 후 시간 지연 없이 즉각 시작된다. 이 차이를 고려할 때 beta carotene은 후 처리에 대한 효과를 볼 수 있는 시간의 범위가 짧은 것으로 판단된다.

2일 동안 후 처리한 경우는 방사선 방호효과가 거의 나타나지 않았다. 더욱 길게 유지시켜 12일 동안 처리한 경우는 2일간 처리한 실험군과 비교하여 유의미한 수준( $p < 0.05$ )으로 떨어졌지만, 4 Gy의 대조군과 비교해서는 큰 차이를 보이지 않았다. ( $p > 0.05$ ) 이 실험을 통해서 MECs에 대하여 최적의 방사선 방호효과를 얻는 조건은 전처리 30분, 후처리, 2시간임을 확인하였다.

#### 4.6.2 Oltipraz

Fig 4.9 (B)는 oltipraz에 대한 결과이다. 앞서 Oltipraz의 전 처리 조건에서 가장 높은 생존율을 보인 30분을 전 처리 시간으로 설정하였다. 후처리 시간은 0시간, 0.5시간, 2시간 그리고 2일 로 나누어 실험하였다. 후처리 후 2시간까지는 세포의 생존율이 떨어지다가 2일 때에는 생존율이 가장 상승하였다. 이는 후처리 실험의 결과와 매우 유사하며 2시간 까지는 Oltipraz 산화체인 PDD에 의한 독성효과가 주요한 영향을 미치며, 12시간이 지나는 시점부터 Oltipraz 의 산화물 (M1, M2)에 의한 방호효과가 주요한 영향을 준다고 판단하였다. 따라서 최적의 방호 조건을 찾기 위해서는 Oltipraz 에 의한 자체 독성 효과를 줄이기 위해 PDD를 소거하는 물질을 추가로 처리하거나, oltipraz를 소량씩 분할 처리하여 M1 및 M2의 생성량을 증가시키는 것이 필요할 것이다. 실제로 병원에서 Oltipraz를 사용한 임상실험 결과 소량씩 중복 투여하는 경우가 가장 높은 치료효과를 나타낸 결과가 존재한다.[17]

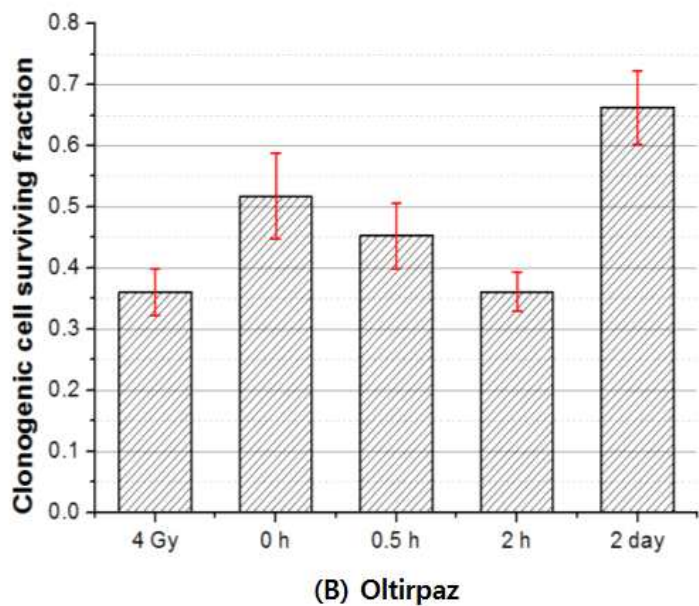
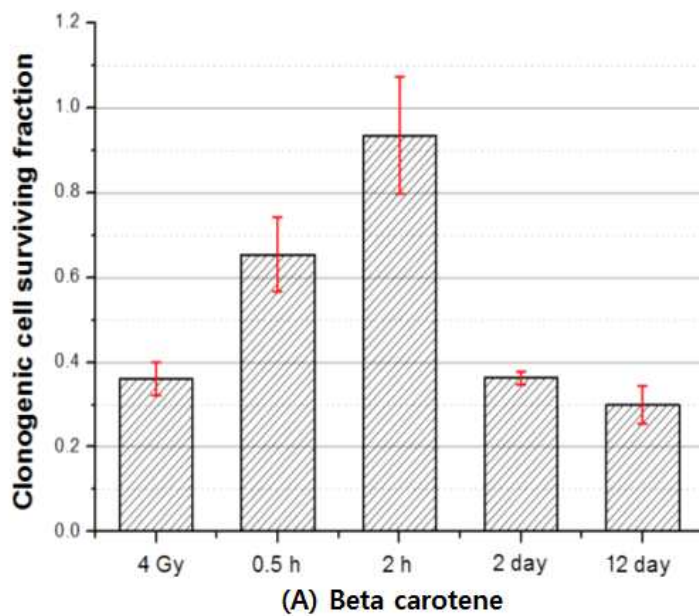


Fig 4.9 Surviving fraction of MECs treated with beta carotene(A), oltipraz(B) 0.5 hour prior to irradiation and several hours after irradiation.

## 4.7 항산화제 특성 비교(Comparison between Beta carotene and Oltipraz)

### 4.7.1 항산화제의 사용량

실험에 사용된 beta carotene과 oltipraz양을 몰농도로 비교하면 다음의 Table 4.1과 같다.

Table 4.1 Antioxidants 의 사용량.

	Beta carotene		Oltipraz	
	$\mu\text{g} / 2 \text{ ml}$	$\mu\text{M}$	$\mu\text{g} / 2 \text{ ml}$	$\mu\text{M}$
(1)	0.54 #	0.503	0.054 #	0.12
(2)	1.08 #	1.06	0.108 #	0.24
(3)	2.7 #	2.51	0.27 * #	0.6
(4)	5.4 *	5.03	0.54 *	1.2

#: 방호효과 있음, \*:세포독성 있음

Beta carotene 이 방호효과를 나타내는 범위는 oltipraz 의 범위에 비하여 4배 가까이 넓다. 또한 독성을 나타내는 농도 또한 4배 가까이 높다. 천연 물질인 beta carotene이 독성이 낮기 때문에 세포가 고사할 가능성이 낮으며, 방호효과를 얻을 수 있는 범위 또한 넓다. 그리고 Beta carotene의 경우에 방호 효과가 나타나는 0.503, 1.06, 2.51  $\mu\text{M}$ 은 각각 신체 혈중 농도의 1배, 2배, 5배 이므로 인체 모델에서도 그 농도를 맞추는 것이 실현 가능한 범위 안에 있다. Beta carotene 에 대한 혈중 농도 평균값은 2031명을 대상으로 3년간 혈중 농도를 계산한 값을 차용하였다.[18] 물론 본 연구에 사용한 세포는 mouse endothelial cell 이며 In vitro에서 실험하였으므로 실제 인체에서 일어나는 반응과는 차이가 존재할 것이다.



#### 4.7.2 항산화제의 방호 기저

Beta carotene 은 세포 내부로 흡수되어 방호효과에 기여하는 반면 oltipraz 는 세포 내부로 흡수되어 방호 효과를 상승시키지 않았다. 또한 beta carotene은 방호효과의 대부분이 활성산소종(ROS)을 직접 소거하는 반응으로 DNA에 미치는 손상을 최소화한데 반해, oltipraz의 경우는 이 반응과 동시에 세포에 내제되어 있는 항산화 시스템을 활성화시키는 우회적인 방호 효과가 동시에 나타났다.

따라서 beta carotene을 통한 방호 효과는, 방사선 피폭이 예상되는 경우에 전 처리함으로써 피해를 예방함으로써 나타난다. 그리고 Oltipraz는 예방 효과를 가짐과 동시에, 예상치 못한 방사선 피폭 시에도 세포의 손상을 완화하는 기능 또한 갖는다고 할 수 있다.

## 4.8 대중 친화적 방사선 방호 정보 전달

### 4.8.1 세포 군집 형성능(Dose-response analysis of clonogenic assay)

Fig 4.10은 에탄올(A)과 방사선(B)에 의한 MECs의 생존율을 나타낸 그래프이다. 에탄올은 각각 13, 26, 52, 65, 78, 117, 130, 156  $\mu\text{l}$ 의 양을 처리였다. MECs에 대한 에탄올과 방사선의 생존율 곡선을 비교하여, clonogenic cell surviving fraction의 관점에서 세포의 증식능력에 영향을 주는 양을 비교 제시하고자 하였다. 생존율은 linear-quadratic model ( $S = e^{-(\alpha D + \beta D^2)}$ )을 이용하여 근사하였다. Table 4.2는 linear-quadratic model에서  $\alpha$  및  $\beta$  값을 나타내었다. 에탄올의 경우  $\alpha$ 값이 음수인데, 이는 에탄올이 소량인 경우 오히려 세포 증식에 이로운 영향을 준다는 것을 의미한다. 에탄올의 양이 소량인 경우에  $e^{-(\alpha D + \beta D^2)}$ 의 그래프는  $\alpha$ 값에 주도적으로 결정된다.

Table 4.2 Coefficients of linear-quadratic curves for clonogenic cell surviving fraction of MEC(Mouse Endothelial Cells)

	$\alpha$	$\beta$
Ethanol	-6.4966E-4	7.6827E-5
X-ray	0.13843	0.03851

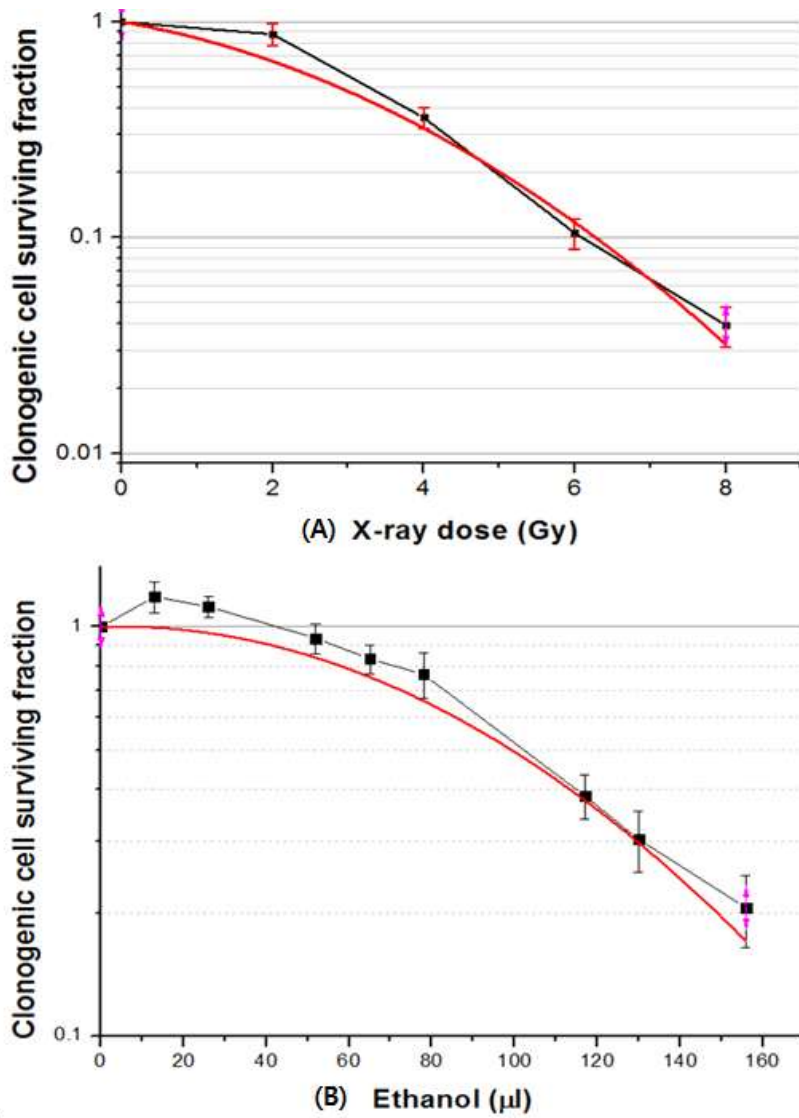


Fig 4.10 Cell surviving fraction of radiation(A) and ethanol(B) on MECs

#### 4.8.2 에탄올의 방사선 등가성(Ethanol doses equivalent to radiation)

Fig 4.11은 동일한 세포 생존율을 보이는 방사선량과 에탄올의 농도 관계를 나타낸 그래프이다. 0.2 Gy 이상에서는 방사선량과 에탄올의 농도 간에 선형적인 비례관계가 나타난다. 그러나 0.2 Gy 보다 작은 방사선량에서는 그 관계가 명확히 나타나지 않는다. 그 이유는 에탄올의 경우 Fig 4.10 (B)에서 볼 수 있듯이 26  $\mu$ l 보다 작은 양에서 세포 독성이 유의미하게 관찰되지 않기 때문이다. Table 4.3은 세포 생존의 관점에서 동일한 세포 독성을 발생시키는 방사선량과 화학물질의 농도를 나타낸 표이다.

Table 4.3 Ethanol doses equivalent to X-ray dose in clonogenic cell surviving fraction with MEC(Mouse Endothelial Cells) in vitro

SF	0.97	0.84	0.31
Ethanol ( $\mu$ l)	24.19	52.4	127.7
X-ray (Gy)	0.2	1	4

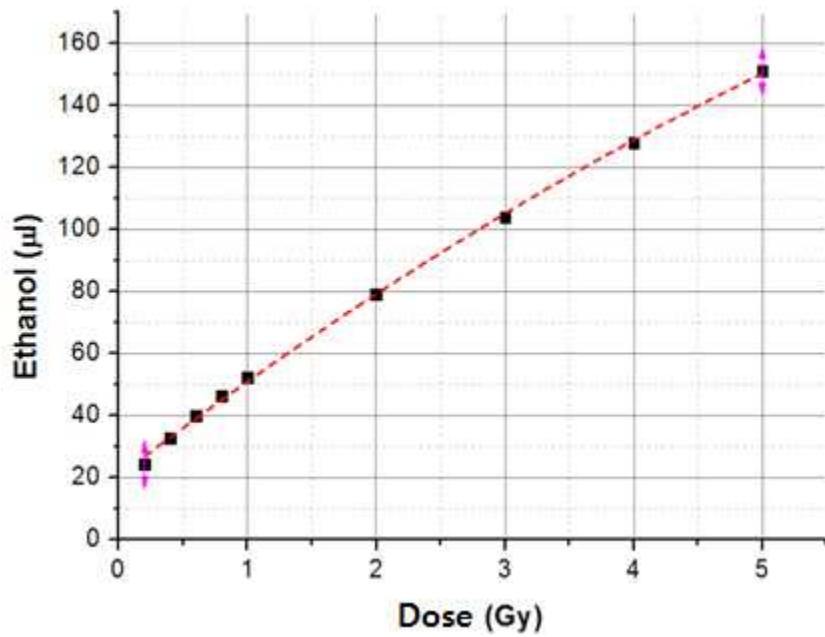


Fig 4.11 Radiation-equivalency of ethanol inducing same clonogenic cell surviving fraction.

#### 4.8.3 항산화제에 의한 방호 효과(Cell-saving efficacy of antioxidants from radiation exposure and its equivalent efficacy in alcohol consumption reduction)

Table 4.4는 항산화제가 가지는 방호 효과를 에탄올의 세포 독성을 이용하여 나타낸 표이다. (1)은 4 Gy의 방사선 피폭 상황에서, 각 항산화제를 처리한 경우와 처리하지 않은 경우 세포의 생존율을 의미한다. oltipraz의 경우가 가장 생존율이 높게 나타났다. (2)는 향상된 세포 생존율 값을 기준으로 하여, 항산화제가 없을 때의 동일한 생존율을 보이는 방사선량을 의미한다. 다시 말해 Beta carotene을 처리한 4 Gy의 피폭상황은, Beta carotene이 없는 2 Gy의 피폭상황과 동일하다. (3)은 해당 방사선량과 동일한 세포 독성을 보이는 에탄올의 양을 의미한다.

Table 4.4 Radioprotection efficacy of antioxidant substances: (1) increase in MECs' clonogenic surviving fractions from 4 Gy of radiation exposure, (2) the corresponding dose reduction effect and (3) the equivalent efficacy from reduction in alcohol consumption.

Antioxidant	Survival fraction (1)		Radiation(Gy) (2)	Ethanol reduction (3)
Beta carotene ( 1.06 $\mu$ M )	w/	0.65	2	144
	w/o	0.36	4	288
Luteolin ( 0.5 $\mu$ M )	w/	0.52	2.7	194
	w/o	0.36	4	288
Lycopene ( 0.37 $\mu$ M )	w/	0.52	2.7	194
	w/o	0.36	4	288
Oltipraz ( 0.24 $\mu$ M )	w/	0.72	1.6	115
	w/o	0.36	4	288

## 제 4 장. 결론

본 연구는 in vitro 실험을 통해 4Gy의 방사선 피폭 상황에서 최적의 방사선 방호효과를 나타내는 항산화제의 농도를 도출하였다. 그리고 방사선에 의한 세포 손상이 실제로 어느 정도이며, 항산화제에 의한 효과는 어떠한지 쉽게 전달하고자, 기호식품의 주성분인 에탄올을 이용하여 세포의 생존을 관점에서 비교 제시하였다. 항산화제의 방사선 방호 특성을 이용하여 MEC세포의 생존율을 높이기 위해서는 다음과 같은 전략을 취할 수 있다.

### (가) 방사선 피폭이 예상되는 상황

일반적으로 의료방사선을 이용할 때 진단방사선의 피폭량은 매우 낮다. X-선을 1회 촬영할 때에 약 0.01~0.3mSv, CT는 2~10mSv의 방사선에 노출된다. 이처럼 작은 양의 방사선 피폭이 예상되는 경우 소량의 항산화제로를 처리하여 부작용 없이 방호 효과를 얻을 수 있다.

### (나) 예상하지 못한 방사선 피폭 상황

방사능 재해등 사고가 발생했을 때에는 항산화제 섭취를 통해서 방호효과를 얻을 수 있다. 방사선에 피폭된 경우 Oltipraz를 후 처리하면 방사선 피해를 완화시킴으로서 방호 효과를 얻을 수 있다.

이 결과를 통해 방사선 정보에 대한 일반인들의 이해도가 높아질 것이라 판단되며, 제한적이며 폐쇄적인 방사선의 정보를 대중 친화적인 정보의 형태로 일반인들에게 제공함으로써 일반인들의 무분별한 방사선에 대한 두려움을 막고 정확한 인식을 도모할 것이라 판단된다. 그러나 본 연구는 in vitro로 실험을 통해 얻은 결과로 인체 적용에는 한계가 있으므로 추가적인 in vivo 실험이 요구된다.

## References

- [1] S.M. Bhosle, N.G. Huilgol and K.P. Mishra, Enhancement of radiation induced oxidative stress and cytotoxicity in tumor cells by ellagic acid, *Clin. Chim. Acta* 359, (2005) 89–100
- [2] B. Halliwell, Effect of diet on cancer development: is oxidative DNA damage a biomarker?, *Free Radical Biol. Med.* 32, (2002) 968–974
- [3] N. Rajendra Prasad, V.P. Menon, V. Vasudev and K.V. Pugalendi, Radioprotective effect of sesamol on  $\gamma$ -radiation induced DNA damage, lipid peroxidation and antioxidants levels in cultured human lymphocytes, *Toxicology* 209, (2005) 225–235
- [4] Srinivasan M, Sudheer AR, Pillai KR, Kumar PR, Sudhakaran PR and Menon VP, Lycopene as a natural protector against  $\gamma$ -radiation induced DNA damage, lipid peroxidation and antioxidant status in primary culture of isolated rat hepatocytes in vitro. *Biochim Biophys Acta*, (2007) 659-665
- [5] G.C. Jagetia, M.S. Baliga, K.J. Malagi, M and Sethukumar Kamath, The evaluation of the radioprotective effect of Triphala (an ayurvedic rejuvenating drug) in the mice exposed to  $\gamma$ -radiation, *Phytomedicine*, (2002) 99–108



- [6] G.C. Jagetia, M.S. Baliga, K.J. Malagi, M and Sethukumar Kamath, Antioxidant, anticlastogenic and radioprotective effect of *Coleus aromaticus* on Chinese hamster fibroblast cells (V79) exposed to gamma radiation, *Phytomedicine*, (2002) 99–108
- [7] Konopacka M, Widel M and Rzeszowska-Wolny J, Modifying effect of vitamins C, E and beta-carotene against gamma-ray-induced DNA damage in mouse cells, (1998) 85-94
- [8] Adhikari M, Dhaker A, Adhikari J, Ivanov V, Singh V, Chawla R, Kumar R, Sharma R, Karamalakova Y, Gadjeva V and Arora R, In vitro studies on radioprotective efficacy of silymarin against gamma-irradiation, *Int J Radiat Biol*, (2013) 200-211
- [9] Srinivasan M, Sudheer AR, Pillai KR, Kumar PR, Sudhakaran PR, Menon VP, Lycopene as a natural protector against  $\gamma$ -radiation induced DNA damage, lipid peroxidation and antioxidant status in primary culture of isolated rat hepatocytes in vitro, *Biochim Biophys Acta*, (2007) 659-665
- [10] Ahmet Ateşşahin, İzzet Karahan, Gaffari Türk, Seyfettin Gür, Seval Yılmaz and Ali Osman Çeribaşı, Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats, *Reproductive Toxicology*, (2006) 42–47

[11] Citrin D, Cotrim AP, Hyodo F, Baum BJ, Krishna M and Mitchell J, Radioprotectors and Mitigators of Radiation-Induced Normal Tissue Injury, (2010) 360-371

[12] D. J. Grdina, J. S. Murley, and Y. Kataoka, Radioprotectants: Current status and new directions, *Oncology* 63, (2002).

[13] Paul Okunieff, Steven Swarts, Peter Keng, Weimin Sun, Wei Wang, Jung Kim, Shanmin Yang, Hengshan Zhang, Chaomei Liu, Jacqueline P. Williams, Amy K. Huser and Lurong Zhang, Antioxidants Reduce Consequences of Radiation Exposure, *Advances In Experimental Medicine And Biology* 614, (2008) 165-178

[14] Paul Okunieff, Steven Swarts, Peter Keng, Weimin Sun, Wei Wang, Jung Kim, Shanmin Yang, Hengshan Zhang, Chaomei Liu, Jacqueline P. Williams, Amy K. Huser and Lurong Zhang, Antioxidant and mitochondrial protective effects of oxidized metabolites of oltipraz, *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, (2008) 165–178

[15] 권영남, 아라키돈산에 의한 산화적 스트레스에 미치는 올티프라즈 대사체의 효과, M.S, Seoul national university, (2009)

[16] Myong Suk Ko, Seung Jin Lee, Jin Wan Kim, Jee Woong Lim and Sang Geon Kim, Differential effects of the oxidized metabolites of oltipraz on the activation of C/EBP $\beta$  and Nrf2 for GSTA2 gene

induction, M.S, Seoul national university, (2006)

[17] Clapper ML, Chemopreventive Activity of Oltipraz, *Pharmacol Ther.* (1998) 17-27

[18] Cara L. Frankenfeld, Johanna W. Lampe Jackilen Shannon, Dao L. Gao, Wenjin Li, Roberta M. Ray, Chu Chen, Irena B. King, and David B. Thomas, Fruit and vegetable intakes in relation to plasma nutrient concentrations in women in Shanghai, China , *Public Health Nutrition*, (2012) 167-175

[19] Rodney J. Bushway, Determination of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Carotene in Fruit and Vegetables by High Performance Liquid Chromatography, *Agriculture and Food Chemistry*, (1986) 409–412

[20] Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Health and Safety Information, (2007)

[21] Dewey CF Jr, Bussolari SR, Gimbrone MA Jr and Davies PF, The dynamic response of vascular endothelial cells to fluid shear stress, *J Biomech Eng*, (1981) 177-185

[22] Jaroslav Póla, Tuulia Hyötyläinen, Outi Ranta-Ahoa, Marja-Liisa Riekkolaa Determination of lycopene in food by on-line SFE coupled to HPLC using a single monolithic column for trapping and separation, *Journal of Chromatography Issues*, (2004)

[23] Julie K. Collins, Guoyao Wu and Penelope Perkins-Veazie, Consumption of Watermelon Juice Increases Plasma Concentrations of Lycopene and beta-Carotene in Humans, Nutrition, (2007)

## Abstract

# Assessment of the Radioprotection Efficacy of Antioxidant Substances in Foods in regard to Clonogenic Cell Survival

HyoSung Park

Department of Nuclear Engineering

The Graduate School

Seoul National University

Radiation is perceived by the public a hazard in spite of its diverse utilities. The public are now more sensitive than ever of the activities from the nuclear power plant industry since the nuclear reactor explosion in Fukushima, Japan in March 2011 with the consequential environment contamination. The never-dissolved fear from the public of the nuclear energy costs the nuclear industry too much for safety measures not to mention brings the public uneasy life.

Effects of radiation on the human body have been studied in various ways. However, even though there are plenty of informations about

biological effects of radiation. It is still difficult for the public to understand expertise. Because the more studies get specified, the more people cannot understand them. Thus, a new type of information was proposed in this study. First of all, we focused on familiar radio-protective elements in everyday life. Beta carotene, Oltipraz and Luteolin can protect cells against radiation-induced cell-death and DNA damage. And it can be easily absorbed from various foods. Secondly, the concentration of ethanol showing the radiation-equivalency was investigated. It may provide an effective way for understanding the radiation damage and radio-protective effect through the comparison with the amount of the ethanol concentration.

**Keywords : Antioxidants, Radio-protection effect, Ethanol, Cytotoxicity,  
Radiation-equivalency**

**Student Number : 2012-21000**